

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

THÈSE

RÉALISÉE À L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI

DANS LE CADRE DU PROGRAMME

DE DOCTORAT DES SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

DE L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

OFFERT PAR EXTENSION À L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI

PAR

SERGE LAVOIE

B. SC. (CHIMIE)

M. SC. (RESSOURCES RENOUVELABLES)

**Isolement et caractérisation de principes actifs d'*Abies balsamea*
et de *Cornus canadensis***

JANVIER 2015

RÉSUMÉ

Cette thèse présente les travaux réalisés dans le cadre du Doctorat en Science de l'environnement et qui ont pour thèmes l'étude phytochimique du sapin baumier (*Abies balsamea*) et du quatre-temps (*Cornus canadensis*). Une revue de littérature étoffée sur le sapin baumier et le quatre-temps recensera d'abord l'ensemble des molécules et bioactivités décrites jusqu'à maintenant pour ces deux plantes.

Suivront ensuite les résultats obtenus sur le sapin baumier. La structure de deux tétraterpènes, rapidement déterminée grâce à la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire et à la cristallographie par rayon X, sera d'abord présentée. Ensuite, de nouveaux triterpènes de la famille des lanostanes seront décrits. Ces résultats seront complétés par une proposition de structure pour plusieurs autres tétraterpènes qui n'ont pu faire l'objet d'analyse cristallographique.

La dernière partie sera constituée des travaux sur le quatre-temps. L'isolement des principes bioactifs de la plante sera d'abord présenté. Les composés isolés ont été caractérisés par résonance magnétique nucléaire et identifiés comme étant des tannins hydrolysables. Leurs activités antiherpétiques seront ensuite données. Ces résultats seront suivis par la synthèse et l'évaluation de l'activité biologique de composés inspirés de ces principes bioactifs. L'assignation des signaux de résonance magnétique nucléaire de ces molécules sera finalement présentée.

ABSTRACT

This thesis describes the research carried out as part of the PhD in Environment Science and deals with the phytochemistry of balsam fir (*Abies balsamea*) and of bunchberry (*Cornus canadensis*). A complete literature review covering fir and dogwood will first enumerate the molecules and the bioactivities reported until now for these two plants.

Will then follow the results on balsam fir. First, the structure of two tetraterpenes, determined from nuclear magnetic resonance spectroscopy and X-ray crystallography, will be reported. Then, some new triterpenes from the lanostane family will be described. These results will be complemented with a proposal for the structure of several other tetraterpenes that could not be analyzed by crystallography.

The last part will deal with the bunchberry. First, the isolation of bioactive principles of the plant will be reported. The isolated compounds were characterized by nuclear magnetic resonance and identified as hydrolyzable tannins. Their antiherpetic activity will then be demonstrated. These results will be followed by synthesis and evaluation of the bioactivities of molecules derived from those tannins. A complete assignment of the NMR signals for these molecules will ultimately be presented.

RÉSUMÉ (VERSION LONGUE)

Cette thèse présente les travaux réalisés dans le cadre du Doctorat en Science de l'environnement et qui ont pour thèmes l'étude phytochimique du sapin baumier (*Abies balsamea*) et du quatre-temps (*Cornus canadensis*). Ces deux plantes appartiennent à des genres qui ont été abondamment étudiés. Une revue de la littérature comprenant toutes les molécules isolées et les activités biologiques d'extraits ou de molécules provenant de ces plantes sera donc d'abord présentée.

Au chapitre 3 seront présentés l'abibalsamine A et B, deux tétraterpènes isolés à partir de l'oléorésine du sapin baumier (*Abies balsamea*) et qui présentent une structure unique. En effet, celle-ci s'explique probablement par une cycloaddition de Diels-Alder [4 + 2] entre un 3,4-sécolanostane et le β -myrcène. Leur structure a été déterminée suite à des analyses poussées en RMN 2D ainsi qu'à la spectroscopie infrarouge (IR) et la spectrométrie de masse (MS). La configuration absolue d'un des composés a été déterminée par diffraction des rayons X sur un monocristal. Les deux composés ont montré une activité cytotoxique significative envers des cellules cancéreuses.

Au chapitre 4 sera présentée une analyse phytochimique de l'oléorésine du sapin baumier (*Abies balsamea*) dans laquelle quatre nouveaux triterpènes de type 3,4-sécolanostane et cycloartane ont été isolés avec quatorze autres composés terpéniques. La caractérisation structurale est basée sur l'analyse détaillée des spectres RMN 1D et 2D, infrarouge et de masse puis validée par une comparaison avec la littérature. L'activité biologique *in vitro* des composés isolés a été évaluée sur des cellules humaines cancéreuses (A549, DLD-1) et saines (WS1) et sur des cellules bactériennes (*E. coli* et *S. aureus*). L'acide abiésinique a montré une faible cytotoxicité contre les cellules A549 ($IC_{50} = 22 \mu M$) tandis que l'acide 3 α -hydroxy-23-oxocycloart-25(27)-en-26-oïque et l'ester 3-méthylrique de l'acide abiésinique se sont montrés légèrement actifs contre *S. aureus* (CMI = 25 μM).

Au chapitre 5 seront présentés huit nouveaux tétraterpènes qui ont été isolés à partir de l'oléorésine d'*Abies balsamea* suite à plusieurs étapes chromatographiques. Leur structure a été établie grâce à une analyse détaillée des spectres RMN 1D et 2D. Il a été établi qu'une partie de ces composés sont des paires de diastéréoisomères. Le calcul théorique des spectres de dichroïsme circulaire n'a pas permis de discriminer la configuration absolue des molécules. Cependant, grâce aux modèles théoriques utilisés dans ces calculs, il a été possible d'interpréter les corrélations ROESY et d'en

déduire la structure précise des composés. Ces derniers ont montré une cytotoxicité significative contre des carcinomes du poumon (A549) et des adénocarcinomes colorectaux (DLD-1). Certains composés ont en plus montré une sélectivité entre les cellules cancéreuses et les cellules saines (WS1).

Au chapitre 6 seront présentés les travaux d'isolement des principes bioactifs du quatre-temps (*Cornus canadensis*). Un fractionnement guidé par les bioessais a été réalisé et a permis d'isoler un total de dix-neuf composés, dont huit provenaient d'une fraction ayant présentée une activité antiherpétique. La structure des molécules a été déterminée par l'analyse des spectres RMN 1D et 2D et validée par la comparaison des données de la littérature. L'activité antivirale des composés a été évaluée contre le HSV-1 en suivant différents protocoles afin de déterminer le mécanisme d'action. Ainsi, il est montré que les principes actifs sont des tannins hydrolysables et qu'ils agissent directement sur le virus pour bloquer sa prolifération. Également, une étude temporelle a été réalisée afin d'étudier l'évolution du rendement d'extraction, de la composition, ainsi que de l'activité antivirale de l'extrait de *C. canadensis* au cours de sa saison de croissance.

Au chapitre 7 seront présentés les résultats de la synthèse d'une librairie de dérivés de sucres pergallolylés. Ces composés ont été synthétisés en deux étapes, soit une estérification de Steglich et une hydrogénolyse. Les activités antioxydantes, anticancéreuses, anti-inflammatoires, antibiotiques, antifongiques et antivirales des molécules obtenues ont été évaluées. Le résultat le plus intéressant, soit l'activité anticancéreuse du 1,2,3,4-tetra-*O*-galloyl- β -L-arabinopyranoside sera discuté.

Au chapitre 8 sera présentée l'analyse spectroscopique détaillée des sucres galloylés de synthèses. Les signaux RMN ^1H et ^{13}C ont été assignés de manière précise à l'aide d'expérience 1D et 2D. Chaque unité galloyle a pu être assignée grâce aux expériences HMBC semi-sélective, ou HSQC optimisée pour les couplages distants.

REMERCIEMENTS

La réalisation d'une thèse de doctorat est impossible sans le soutien d'un grand nombre de personnes. Je tiens donc à souligner la contribution de chacune d'elles.

La personne la plus importante est certainement mon directeur de recherche, mon ami le professeur André Pichette. J'ai commencé à travailler avec André durant mes années de baccalauréat, alors que lui-même complétait son doctorat et depuis, nous n'avons cessé de travailler ensemble. Durant toutes ces années, André a su construire un environnement de recherche des plus stimulants qui m'a permis de m'épanouir en tant que chercheur. André, je ne te remercierai jamais assez.

Mon co-directeur de recherche, le professeur Jean Legault, est également une personne importante. C'est grâce à son équipe que les travaux réalisés au laboratoire LASEVE prennent tout leur sens. L'ouverture de Jean a rendu nos discussions vraiment faciles. Merci Jean!

Le professeur invité Vakhtang Mshvildadze a pris une part très importante dans ce projet. Quiconque a passé un peu de temps au laboratoire a certainement été surpris par des conversations viriles entre Vakhtang et moi-même. Il ne faut pas se tromper, Vakhtang et moi sommes de très bons amis. Sa connaissance profonde de la chimie des produits naturels a permis au laboratoire de prendre son envol. Merci Vakhtang!

Le Dr. François Simard m'a beaucoup aidé durant mes travaux sur différents aspects logistiques. À de nombreuses reprises, lorsque j'étais sur mon île, François m'a rendu service et ce fut très apprécié. Merci François!

Le Dr Charles Gauthier a un talent impressionnant pour la science en général. Sans son aide, l'écriture des articles de cette thèse aurait été beaucoup plus compliquée. Merci Charles!

D'autres personnes présentes au laboratoire, soit Carole Grenon, Balla Sylla et Benoît Roger, m'ont fourni de l'aide à plusieurs reprises. Avec le temps, j'ai forgé des liens d'amitié avec ces personnes que je porte en haute estime : Merci Carole, Balla et Benoît!

Les tests d'activité biologique sont des procédures qui exigent une minutie et une précision qui ne trouve pas d'égal en chimie. Ainsi, Karl Girard-Lalancette, Catherine Dussault et Isabelle Côté ont réalisé ces tâches fastidieuses pour moi. J'ai aimé discuter avec ces personnes, dans leur bureau, que je considérais comme un havre de paix. Merci Karl, Catherine et Isabelle!

La loyauté et le dévouement sont deux qualités que j'ai rapidement reconnues chez Michael Ouellet. Ce jeune étudiant, promis à un brillant avenir, a travaillé avec moi sur plusieurs aspects de ma thèse. Un autre étudiant, Pierre-Yves Fleury, a aussi collaboré avec moi à quelques reprises. Celui-ci, avec sa discipline de travail, est lui aussi promis à un bel avenir. Merci Michael et Pierre-Yves!

D'autres étudiants ont contribué de manière non négligeable à la réalisation de cette thèse. Ainsi, Sylvain Mercier, Alexis St-Gelais, Hubert Marceau et Rachel H. Fontaine, je vous remercie.

Le soutien technique offert par l'Université du Québec à Chicoutimi et représenté par Caroline Potvin, Patrick Nadeau et Claire Fournier est d'une qualité irréprochable. J'ai sollicité leur aide à de nombreuses reprises et je n'ai jamais trouvé de porte close. Merci Caroline, Patrick et Claire!

Quatre années de travail intense pour réaliser une thèse de doctorat ne se déroulent pas sans apport financier. J'ai eu la chance de recevoir une bourse de réintégration à la recherche du Fond Québécois de Recherche Nature et Technologies (FQRNT) pour une période de trois ans. Merci au FQRNT.

Si je suis ce que je suis, c'est grâce à mes parents : ma mère Nicole, mon père Michel et mon frère Éric. Même si au cours de ma vie, je n'ai pas toujours compris toutes leurs interventions, aujourd'hui, je ne peux que constater que chacune d'elles était justifiée. Je vous aime très profondément et je vous remercie de tout mon cœur d'être ce que vous êtes.

J'ai la chance d'être l'oncle de deux personnes extraordinaires : Guillaume et Arianne. Ces deux jeunes personnes sont les enfants de mon frère et de ma belle-sœur, Valérie Simard. Même si j'ai choisi d'être loin de vous, c'est vous qui êtes le plus près dans mon cœur.

Je terminerai cette partie en remerciant une partie de moi-même : mon épouse Francine Nagau. Francine, c'est grâce à toi si j'ai fait cette thèse, c'est grâce à toi si j'ai découvert de nouveaux horizons, c'est grâce à toi si je suis devenu un homme comblé. Tu m'as soutenu durant mes séjours au Québec,

tu m'as enduré durant l'écriture de cette thèse en Guadeloupe, tu m'as suivi dans cette folle aventure et je ne sais comment te remercier. Tout ce que je fais maintenant, je le fais pour toi. Merci mon amour! Mwen enmé'w

TABLE DES MATIÈRES

Résumé.....	iii
Abstract.....	iv
Résumé (version longue)	v
Remerciements.....	vii
Table des matières.....	x
Liste des figures	xvii
Liste des tableaux.....	xxiii
Liste des abréviations.....	xxvii
CHAPITRE 1 Introduction générale.....	31
CHAPITRE 2 Revue de la littérature.....	36
1. Sapins.....	37
1.1. Considération botanique.....	37
1.2. Phytochimie	40
1.2.1 Composés phénoliques.....	43
1.2.2 Monoterpènes	43
1.2.3 Sesquiterpènes.....	44
1.2.4 Diterpènes	45
1.2.5 Triterpènes.....	46
1.2.6 Tétraterpènes	46
1.2.7 Stérols.....	47
1.2.8 Autres composés	47
1.3. Activités biologiques.....	47
1.3.1 Activités antibactériennes	48

1.3.2	Activités antifongiques.....	51
1.3.3	Activités anti-inflammatoires.....	52
1.3.4	Activités anticancéreuses	55
1.3.5	Autres activités.....	60
2.	<i>Cornus</i>	62
2.1.	Considération botanique.....	62
2.2.	Phytochimie	64
2.2.1	Composés phénoliques.....	65
2.2.2	Iridoïdes.....	65
2.2.3	Autres terpènes.....	66
2.2.4	Stérols.....	66
2.2.5	Autres composés	66
2.3.	Activités biologiques.....	67
2.3.1	Activités antimicrobiennes.....	67
2.3.2	Activités antioxydantes	68
2.3.3	Activités anticancéreuses	70
2.3.4	Activités antivirales.....	72
2.3.5	Autres activités.....	73
	Annexe A : Structure des banques de données	75
	Annexe B : Structure des molécules identifiées dans le genre <i>Abies</i>	77
	Annexe C : Informations détaillées des composés identifiés dans le genre <i>Abies</i>	118
	Annexe D : Structure des molécules identifiées dans le genre <i>Cornus</i>	158
	Annexe E : Informations détaillées des composés identifiés dans le genre <i>Cornus</i>	168
	CHAPITRE 3 Abibalsamins A et B, deux nouveaux tétraterpènes de l'oléorésine du sapin baumier (<i>Abies balsamea</i>).....	173
1.	Contribution des auteurs	174

2. Remarques	174
3. Résumé graphique	175
4. Résumé	175
5. Abstract.....	175
6. Introduction.....	176
7. Results and discussion	177
8. Experimental section	184
8.1. General methods	184
8.2. Isolation of compounds 838 , 855 and 856	185
8.3. X-ray crystallography of 855	185
9. Acknowledgements.....	185
Annexe F : Supporting informations.....	185
CHAPITRE 4 Triterpènes de type lanostane et cycloartane dans l'oléorésine du sapin	
baumier (<i>Abies balsamea</i>).....	188
1. Contribution des auteurs	189
2. Remarques	189
3. Résumé graphique	190
4. Résumé	190
5. Abstract.....	190
6. Introduction.....	191
7. Results and discussion	191
8. Experimental section	200
8.1. General methods	200
8.2. Plant material	201
8.3. Extraction and isolation.....	201
8.4. Characterization	203

8.5. Cytotoxic activity bioassay	204
8.6. Antibacterial bioassay	205
9. Acknowledgements.....	205
Annexe G : Supporting informations	206
CHAPITRE 5 Analyse de tétraterpènes diastéréoisomériques	231
1. Prologue.....	232
2. Introduction.....	233
3. Matériels et méthodes	234
3.1. Considérations générales.....	234
3.2. Matériel végétal.....	234
3.3. Isolement des composés.....	235
3.4. Données physiques et spectroscopiques des composés 1061-1068	235
3.5. Modélisation des spectres de dichroïsme circulaire (ECD)	237
3.6. Évaluation de la cytotoxicité	239
4. Résultats et discussion	241
4.1. Caractérisation des composés 1061-1068	241
4.2. Stéréochimie des composés isolés.....	252
4.3. Modélisation.....	258
4.3.1 Modélisation des molécules 1063/1067 et 1064/1065/1068	258
4.3.2 Interprétation des spectres ROESY des molécules 1063/1067 et 1064/1065/1068	265
4.3.3 Modélisation des molécules 1061 et 1062 et spectres ROESY.....	267
4.3.4 Interprétation des spectres ROESY des composés 855 , 856 et 1066	270
4.3.5 Résumé.....	271
4.4. Activité biologique.....	273
5. Discussions et conclusion	275

Annexe H : Informations supplémentaires.....	280
CHAPITRE 6 Isolement de flavonoïdes et de tannins hydrolysables à partir du <i>Cornus canadensis</i>	298
1. Introduction.....	299
2. Matériels et méthodes.....	301
2.1. Considérations générales.....	301
2.2. Matériel végétal.....	302
2.3. Fractionnement guidé par les bioessais, isolement et identification des composés actifs	302
2.3.1 Extraction du matériel végétal.....	302
2.3.2 Fractionnement de la fraction n-BuOH.....	303
2.3.3 Caractérisation des composés isolés.....	304
2.4. Activité antivirale.....	309
2.4.1 Culture cellulaire et virale.....	309
2.4.2 Évaluation de l'activité antivirale sur plaque 24 puits.....	310
2.4.4 Mode d'action	311
2.6. Étude temporelle	313
3. Résultats et discussions.....	315
3.1. Extraction et isolement des composés bioactifs.....	315
3.2. Isolement de composés à partir de fractions inactives	329
3.3. Identification des composés	335
3.4. Activité antivirale des composés isolés.....	351
3.5. Activité <i>in vivo</i>	354
3.6. Étude temporelle	355
3.6.1 Rendements	356
3.6.2 Composition	359

4. Conclusion	370
Annexe I : Informations supplémentaires	375
CHAPITRE 7 Synthèse et activité biologique de sucres pergalloylés	410
1. Introduction.....	411
2. Matériels et méthodes	413
2.1. Considérations générales.....	413
2.2. Synthèses.....	414
2.3. Activité antivirale.....	431
2.3.1 Culture cellulaire et virale	431
2.3.3 Mode d'action	432
2.4. Activité antioxydante	433
2.5. Activité anti-inflammatoire	433
2.6. Activité antimicrobienne	434
2.7. Activité anticancéreuse	434
2.7.1 Réduction de la résazurine	435
2.7.2 Quantification de l'ADN cellulaire.....	435
3. Résultats et discussions.....	437
3.1. Synthèse	437
3.2. Activité antivirale.....	439
3.3. Activité antioxydante et anti-inflammatoire	441
3.4. Activité anticancéreuse	442
4. Conclusion	448
Annexe J : Informations supplémentaires	450
CHAPITRE 8 Étude RMN des sucres pergalloylés	469
1. Contribution des auteurs	470

2. Remarques	470
3. Résumé	470
4. Abstract.....	471
5. Introduction.....	472
6. Experimental.....	472
6.1. Preparation of 3,4,5-tri(benzyloxy)benzoic acid (1088)	472
6.2. Preparation of compounds.....	472
6.3. Spectra.....	473
7. Results and discussion	473
8. Acknowledgements.....	483
Annexe K : Supporting informations	484
CHAPITRE 9 Discussions générales et conclusions	520
1. Sapin baumier	521
2. Quatre-temps.....	523
Références	527

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Parties caractéristiques du genre <i>Abies</i>	38
Figure 2 : Organigramme hiérarchique construit à partir des critères phénotypiques du tableau 1	40
Figure 3 : Les six espèces de <i>Cornus</i> rencontrées au Québec.....	62
Figure 4 : Fleur typique du quatre-temps (<i>Cornus canadensis</i>).....	63
Figure 5 : Structure des banques de données de phytochimie.....	76
Figure 6 : Composés phénoliques : stilbènes et chalcones.....	77
Figure 7 : Composés phénoliques : flavonoïdes.....	78
Figure 8 : Composés phénoliques : flavonoïdes (suite)	79
Figure 9 : Composés phénoliques : flavonoïdes (suite)	80
Figure 10 : Composés phénoliques : flavonoïdes (suite)	81
Figure 11 : Composés phénoliques : biflavonoïdes (suite)	82
Figure 12 : Composés phénoliques : biflavonoïdes (suite)	83
Figure 13 : Composés phénoliques : lignanes.....	84
Figure 14 : Composés phénoliques : lignanes (suite).....	85
Figure 15 : Composés phénoliques : lignanes (suite).....	86
Figure 16 : Composés phénoliques : lignanes (suite).....	87
Figure 17 : Composés phénoliques : autres.....	88
Figure 18 : Composés phénoliques : autres (suite)	89
Figure 19 : Composés phénoliques : autres (suite)	91
Figure 20 : Monoterpènes : acycliques, bornanes et caranes	91
Figure 21 : Monoterpènes : fenchanes et menthanes	92
Figure 22 : Monoterpènes : menthanes (suite).....	93
Figure 23 : Monoterpènes : pinanes et thujanes.....	94
Figure 24 : Sesquiterpènes : acycliques, aristolanes et bisabolanes.....	95
Figure 25 : Sesquiterpènes : bisabolanes (suite)	96
Figure 26 : Sesquiterpènes : bisabolanes (suite) et cadinanes.....	97
Figure 27 : Sesquiterpènes : cadinanes (suite), caryophyllanes, cédranes et érémodiphanes	98

Figure 28 : Sesquiterpènes : eudesmanes.....	99
Figure 29 : Sesquiterpènes : germacrane, guaïane et himachalane	100
Figure 30 : Sesquiterpènes : humulane et autres	101
Figure 31 : Diterpènes : abietanes.....	102
Figure 32 : Diterpènes : abietanes (suite).....	103
Figure 33 : Diterpènes : abietanes (suite), kaurane et labdane.....	104
Figure 34 : Diterpènes : labdane (suite) et pimarane	105
Figure 35 : Diterpènes : podocarpane et autres	106
Figure 36 : Triterpènes : cycloartane.....	107
Figure 37 : Triterpènes : cycloartane (suite), ursane et gammacérane	108
Figure 38 : Triterpènes : hopane et lanostane	109
Figure 39 : Triterpènes : lanostane (suite).....	110
Figure 40 : Triterpènes : lanostane (suite).....	111
Figure 41 : Triterpènes : lanostane (suite).....	112
Figure 42 : Triterpènes : lanostane (suite).....	113
Figure 43 : Triterpènes : lanostane (suite).....	114
Figure 44 : Tétraterpènes	114
Figure 45 : Stéroïdes.....	115
Figure 46 : Autres composés : longue chaîne, acide gras et ionone	116
Figure 47 : Autres composés : alcaloïdes et autres	117
Figure 48 : Composés phénoliques : flavonoïdes et anthocyanes.....	158
Figure 49 : Composés phénoliques : lignane.....	159
Figure 50 : Composés phénoliques : tannins.....	160
Figure 51 : Composés phénoliques : tannins (suite)	161
Figure 52 : Composés phénoliques : tannins (suite)	162
Figure 53 : Composés phénoliques : autres.....	163
Figure 54 : Monoterpènes : iridoïdes	164
Figure 55 : Terpènes : cadinane et tirucallane	165
Figure 56 : Terpènes : lanostane, ursane, lupane et oléane	166
Figure 57 : Stéroïdes : stigmastane et spirostane.....	167
Figure 58 : Autres composés.....	167

Figure 59: Structures of abibalsamins A (855) and B (856), and the related abiesonic acid (838).....	177
Figure 60: Selected ^1H - ^1H COSY, HMBC, and ROESY correlations for compound 855	178
Figure 61: X-ray structure of abibalsamin A (855).....	179
Figure 62: Plausible Biosynthetic Pathway of 855 and 856	183
Figure 63: Structures of isolated compounds.....	192
Figure 64: Selected COSY (—), HMBC (blue arrows) and NOESY (red arrows) correlations for compounds 714 , 825 and 831	197
Figure 65 : Liens libres de rotation (en bleu) pour la génération des conformères.....	237
Figure 66 : Corrélations COSY (—) et HMBC (→) les plus importantes du composé 1061	242
Figure 67 : Corrélations COSY (—) et HMBC (→) les plus importantes du composé 1062	245
Figure 68 : Corrélations COSY (—) et HMBC (→) les plus importantes du composé 1063	246
Figure 69 : Corrélations COSY (—) et HMBC (→) les plus importantes du composé 1064	247
Figure 70 : Corrélations COSY (—) et HMBC (→) les plus importantes du composé 1065	247
Figure 71 : Comparaison des spectres RMN ^1H des molécules 855 et 1066	250
Figure 72 : Comparaison des spectres RMN ^{13}C des molécules 855 et 1066	251
Figure 73 : Structures des composés 1066-1068 , comparées à leur diastéréoisomère respectif.....	252
Figure 74 : Biosynthèse des composés 855 et 1061-1068 , à partir des triterpènes 825 , 831 et 838	254
Figure 75 : Stéréochimies possibles pour les composés 856 , 1061 , 1062 , 1064 , 1065 et 1068 (à gauche), et 1063 , 1066 et 1067 (à droite)	255
Figure 76 : Constantes de couplage calculées pour un H-24 axial (à gauche) ou équatorial (à droite).....	256
Figure 77 : Déplacements chimiques ^{13}C de méthyles en position axiale ou équatoriale.....	257
Figure 78 : Structure finale de l'abibalsamine D (1066)	257
Figure 79 : Structure des conformères les plus stables pour chaque modèle	262

Figure 80 : Spectre ECD calculés pour les modèles A-D	264
Figure 81 : Spectres ECD expérimentaux (en bas) pour les molécules 1063-1068	264
Figure 82 : Spectres ROESY des composés 1063 et 1067	265
Figure 83 : Spectres ROESY des composés 1064 , 1065 et 1068	266
Figure 84 : Spectre ROESY du composé 1061	269
Figure 85 : Spectre ROESY du composé 1062	270
Figure 86 : Spectres ROESY des composés 855 , 856 et 1066	271
Figure 87 : Structure définitive des composés 855 , 856 et 1061-1068	272
Figure 88 : Activité antibactérienne des composés isolés d' <i>Abies balsamea</i>	274
Figure 89 : Exemples de réaction de Diels-Alder avec un diénophile trisubstitué	275
Figure 90 : Réaction de Diels-Alder avec le β -myrcène (299)	276
Figure 91 : Chromatogramme GC de l'oléorésine méthylée	277
Figure 92 : Substrats disponibles commercialement	277
Figure 93 : Réaction de Diels-Alder impliquée dans la biosynthèse de la lovastatine (1075)	278
Figure 94 : Hétérodimères isolés à partir des cônes de <i>Pseudolarix amabilis</i>	279
Figure 95 : Protocole expérimental pour déterminer le mode d'action d'un composé pour inhiber l'activité virale	316
Figure 96 : Activité antivirale (HSV-1, 24-puits) de l'extrait ou des fractions de <i>C.</i> <i>canadensis</i> à 100, 50 ou 25 $\mu\text{g ml}^{-1}$	317
Figure 97 : Fractionnement de l'extrait de <i>C. canadensis</i>	318
Figure 98 : CCM des fractions H ₂ O et n-BuOH	319
Figure 99 : HPLC des fractions H ₂ O et n-BuOH	319
Figure 100 : CCM des fractions F1-F6	320
Figure 101 : HPLC des fractions F1-F6	321
Figure 102 : CCM des fractions F4.1-F4.7	322
Figure 103 : HPLC des fractions F4.1-F4.7	323
Figure 104 : HPLC des fractions F4.1-F4.7 à 365 nm	324
Figure 105 : HPLC préparatif de la fraction F4.4	325
Figure 106 : Structure des composés isolés dans la fraction F4	326
Figure 107 : HPLC préparatif de la fraction F4.5	327
Figure 108 : HPLC préparatif de la fraction F4.5 et analyse HPLC des fractions F4.5.1 à F4.5.6	328

Figure 109 : HPLC préparatif de la fraction F4.5.3	329
Figure 110 : Spectres RMN des différents échantillons de la tellimagrandine I (976)	329
Figure 111 : HPLC préparatif de la fraction F4.1	330
Figure 112 : Structures des composés isolés dans <i>C. canadensis</i>	331
Figure 113 : CCM des fractions F5.1-F5.10	332
Figure 114 : Analyse HPLC des fractions F5.1-F5.10	333
Figure 115 : HPLC préparatif de la fraction F5.3	334
Figure 116 : HPLC préparatif de la fraction F5.5	334
Figure 117 : HPLC préparatif de la fraction F5.6	335
Figure 118 : Structures d'un glycoside de kaempférol	336
Figure 119 : Structure des sucres identifiés dans les glycosides isolés	339
Figure 120 : Structure du byzantionoside B (1082) et corrélations COSY (—) et HMBC (→)	342
Figure 121 : Structure de la tellimagrandine I (976)	348
Figure 122 : Structure de l'acide caféique (259)	348
Figure 123 : Structure du 2- <i>O</i> - β -glucopyranosyl-2,6-dihydroxybenzoate de benzyle (1081)	349
Figure 124 : Spectres RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz) de la tellimagrandine (976) enregistrés à 22 mois d'intervalle	354
Figure 125 : Scores cliniques des souris infectées au HSV-1	355
Figure 126 : Titres viraux des souris infectées au HSV-1	355
Figure 127 : Chromatogramme HPLC d'extraits provenant de plantes fraîches ou séchées	358
Figure 128 : Évolution saisonnière du rendement d'extraction des plantes entières et séchées	359
Figure 129 : Analyse en composante principale des chromatogrammes HPLC des extraits de <i>Cornus</i>	360
Figure 130 : Coefficients PC1 et chromatogrammes de trois extraits représentatifs	361
Figure 131 : Spectres UV des pics déterminants pour les racines de <i>C. canadensis</i>	362
Figure 132 : Spectres UV des tannins isolés dans le <i>C. canadensis</i>	363
Figure 133 : Spectres UV d'autres composés isolés dans le <i>C. canadensis</i>	363
Figure 134 : Analyse PC2 des chromatogrammes des extraits de <i>C. canadensis</i> en fonction du jour de récolte	364
Figure 135 : Coefficients PC2 (noir) et chromatogrammes de deux extraits représentatifs	365

Figure 136 : Spectres UV des pics déterminants pour un extrait de plantes récoltées le 19 août 2013	366
Figure 137 : Moyenne par groupes des pEC ₅₀ en mode direct (HSV-1, 96-puits).....	368
Figure 138 : Activité antivirale (HSV-1, 96 puits) en mode direct des extraits de <i>C. canadensis</i> en fonction du jour de récolte.....	369
Figure 139 : Structure de l'acide tannique (1085)	373
Figure 140 : Activité antivirale (HSV-1) et cytotoxique (FL) de gallotannins	411
Figure 141 : Synthèse des sucres galloylés	412
Figure 142 : Sous-produit de la réaction de galloylation	437
Figure 143 : Structure du 1,2,3,5,6-penta- <i>O</i> -galloyl-β-D-galactofuranoside (1116) et du 1,2,3,5-tétra- <i>O</i> -galloyl-β-L-ribofuranoside (1121)	438
Figure 144 : Activité antioxydante (ORAC) des composés synthétiques	442
Figure 145 : Activité anticancéreuse (pIC ₅₀) des composés synthétiques.....	444
Figure 146: Structures 970-1133	474
Figure 147: HMBC (a) and selective HMBC (b) of 1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -galloyl-β-D-glucopyranoside (970)	479
Figure 148: 1D selective ROESY with irradiation of H-2',6' for G-1 (b), G-2 (c), G-3 (d) and G-4 (e). (a) is the 1D ¹ H spectrum	480
Figure 149: Structures 1116 and 1121	481

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Critères d'identification des sapins.....	39
Tableau 2 : Nombre de molécules identifiées dans les différentes espèces d' <i>Abies</i>	42
Tableau 3 : Activité antibactérienne (CMI) d'échantillons préparés à partir de différentes espèces de sapin ^a	49
Tableau 4 : Activité antibactérienne (disque) d'échantillons préparés à partir de différentes espèces de sapin ^a	50
Tableau 5 : Activité anti-inflammatoire d'échantillons préparés à partir de différentes espèces de sapin.....	53
Tableau 6 : Cytotoxicité d'échantillons préparés à partir de différentes espèces de sapin.....	57
Tableau 7 : Nombre de molécules identifiées dans les différentes espèces de <i>Cornus</i>	64
Tableau 8 : Activité antioxydante évaluée via le test de DPPH.....	69
Tableau 9 : Cytotoxicité d'échantillons préparés à partir de différentes espèces de <i>Cornus</i>	70
Tableau 10 : Composés phénoliques identifiés dans le genre <i>Abies</i>	118
Tableau 11 : Monoterpènes identifiés dans le genre <i>Abies</i>	126
Tableau 12 : Sesquiterpènes identifiés dans le genre <i>Abies</i>	136
Tableau 13 : Diterpènes identifiés dans le genre <i>Abies</i>	145
Tableau 14 : Triterpènes identifiés dans le genre <i>Abies</i>	150
Tableau 15 : Tétraterpènes identifiés dans le genre <i>Abies</i>	155
Tableau 16 : Stéroïdes identifiés dans le genre <i>Abies</i>	155
Tableau 17 : Autres composés identifiés dans le genre <i>Abies</i>	155
Tableau 18 : Composés phénoliques identifiés dans le genre <i>Cornus</i>	168
Tableau 19 : Iridoïdes identifiés dans le genre <i>Cornus</i>	170
Tableau 20 : Autres terpènes identifiés dans le genre <i>Cornus</i>	171
Tableau 21 : Stéroïdes identifiés dans le genre <i>Cornus</i>	171
Tableau 22 : Autres composés dans le genre <i>Cornus</i>	172
Tableau 23 : Correspondance des numéros de molécules avec l'article original.....	174
Table 24: NMR Data of Compounds 855 and 856 (δ in ppm, J in Hz).....	181
Table 25: Cytotoxic Activity of Compounds 838 , 855 and 856	184

Tableau 26 : Correspondance des numéros de molécules avec l'article original	189
Table 27: ^{13}C NMR spectroscopic data (100 MHz, CDCl_3) of compounds 714 , 825 , 831 and 841	194
Table 28: ^1H NMR spectroscopic data (400 MHz, CDCl_3) of compounds 714 , 825 , 831 and 841	195
Table 29: NMR Spectroscopic Data (400 MHz, CDCl_3) for compounds 573 and 680	206
Table 30: NMR Spectroscopic Data (400 MHz, CDCl_3) for compounds 620 and 632	207
Table 31: NMR Spectroscopic Data (400 MHz) for compounds 655 and 666	208
Table 32: NMR Spectroscopic Data (400 MHz) for compounds 712 and 760	209
Table 33: NMR Spectroscopic Data (400 MHz) for compounds 823 and 824	210
Table 34: NMR Spectroscopic Data (400 MHz, CDCl_3) for compounds 826 and 828	211
Table 35: NMR Spectroscopic Data (400 MHz, CDCl_3) for compounds 832 and 838	212
Tableau 36 : Données RMN ^{13}C (CDCl_3) des composés 1061-1064	243
Tableau 37 : Données RMN ^1H (CDCl_3) des composés 1061-1064	244
Tableau 38 : Données RMN ^{13}C (CDCl_3) des composés 1065-1068	248
Tableau 39 : Données RMN ^1H (CDCl_3) des composés 1065-1068	249
Tableau 40 : Déplacements chimiques ^1H et ^{13}C des positions 24 et 27 pour les composés 855-856 et 1061-1068	256
Tableau 41 : Nomenclature des modèles	258
Tableau 42 : Énergie interne des 10 conformères les plus stables de chaque modèle	259
Tableau 43 : Énergie (ΔG) ^a et abondance des conformères optimisés par Gaussian (3- 21g/B3LYP).....	260
Tableau 44 : Énergie interne des 10 conformères les plus stables de chaque modèle	267
Tableau 45 : Énergie (ΔG) ^a et abondance des conformères optimisés par Gaussian (3- 21g/B3LYP).....	267
Tableau 46 : Cytotoxicité des tétraterpènes 855 , 856 et 1061-1068	273
Tableau 47 : Emplacement géographique des lieux de récolte	313
Tableau 48 : Détails des échantillons de plantes récoltées.....	314
Tableau 49 : Composition, rendement d'extraction et activité antivirale (24-puits) des parties de <i>C. canadensis</i>	315
Tableau 50 : Données RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) pour les glycosides de kaempférol.....	337
Tableau 51 : Données RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) pour les glycosides de kaempférol.....	338

Tableau 52 : Données RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) pour les glycosides de quercétine	340
Tableau 53 : Données RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) pour les glycosides de quercétine	341
Tableau 54 : données RMN ^1H et ^{13}C (CD_3OD) du byzantionoside B (1082).....	342
Tableau 55 : Données RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) pour les tannins hydrolysables.....	343
Tableau 56 : Données RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) pour les tannins hydrolysables.....	345
Tableau 57 : Données RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) pour les tellimagrandines I (976) et II (977).....	346
Tableau 58 : Données RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) pour les tellimagrandines I (976) et II (977).....	347
Tableau 59 : Données RMN (CD_3OD) de l'acide caféique (259)	349
Tableau 60 : Données RMN (CD_3OD) du 2- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-2,6-dihydroxybenzoate de benzyle (1081).....	350
Tableau 61 : Résumé des composés isolés dans <i>C. canadensis</i>	351
Tableau 62 : Activité antivirale (HSV-1, 24 puits) des composés isolés.....	352
Tableau 63 : Activité antivirale (HSV-1, 96 puits) des composés isolés.....	353
Tableau 64 : Variables (jour, latitude, partie, traitement et rendement) de chaque échantillon.....	357
Tableau 65 : Activités antivirales (HSV-1, 96-puits) des échantillons de plantes récoltées.....	367
Tableau 66 : Activités antiherpétiques (HSV-1) rapportées dans la littérature.....	371
Tableau 67 : Activité antivirale des sucres galloylés.....	440
Tableau 68 : Activité antioxydante et anti-inflammatoire des sucres galloylés.....	441
Tableau 69 : Activités anticancéreuses des sucres galloylés.....	443
Tableau 70 : Activité antimicrobienne des sucres galloylés (CMI_{80} , μM) ^a	446
Tableau 71 : Correspondance des numéros de molécules avec l'article original	470
Table 72: ^1H NMR chemical shifts and their multiplicities ^a for glucose and mannose derivatives in DMSO-d_6	475
Table 73: ^1H NMR chemical shifts and their multiplicities ^a for galactose and xylose derivatives in DMSO-d_6	475
Table 74: ^1H NMR chemical shifts and their multiplicities ^a for ribose and arabinose derivatives in DMSO-d_6	476
Table 75: ^1H NMR chemical shifts and their multiplicities ^a for rhamnose and fucose derivatives in DMSO-d_6	476

Table 76: ^{13}C NMR chemical shifts for glucose, mannose, galactose and xylose derivatives in DMSO-d_6	477
Table 77: ^{13}C NMR chemical shifts for ribose, arabinose, rhamnose and fucose derivatives in DMSO-d_6	478
Table 78: $^1\text{J}_{\text{H-C}}$ (Hz) for sugar derivatives in DMSO-d_6	479
Table 79: ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data for derivatives 1116 and 1121 in DMSO-d_6	482

LISTE DES ABRÉVIATIONS

$[\alpha]_D^{20}$	indice rotation spécifique ($\lambda = 589 \text{ nm}$, $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$)
6T-CEM	leucémie humaine
A549	carcinome pulmonaire humain
ACN	acétonitrile
ADN	acide désoxyribonucléique
AF	<i>Alcaligenes faecalis</i>
AIF	facteur induisant l'apoptose
AMD	Advanced Micro Devices
APCI	ionisation chimique à pression atmosphérique
ATCC	American Type Culture Collection
B3LYP	Becke, three-parameter, Lee-Yang-Parr
BB	<i>Bacillus brevis</i>
BCe	<i>Bacillus cereus</i>
BCi	<i>Bacillus circulans</i>
BL	<i>Bacillus licheniformis</i>
BM	<i>Bacillus megaterium</i>
br	broad (large)
BS	<i>Bacillus subtilis</i>
BTV	virus de la fièvre catharrale
BV-2	cellules microgliales murines
CCM	chromatographie sur couche mince
CD ₃ OD	méthanol deutéré
CDCl ₃	chloroforme deutéré
CH ₂ Cl ₂	dichlorométhane
CHCl ₃	chloroforme
CHICKV	virus du chikungunya
CO ₂	dioxyde de carbone
COLO-205	adénocarcinome colorectal humain
COSY	spectroscopie de corrélation
CT-26	fibroblaste murin
CV-1	fibroblaste simien
DDRII	mémoire dynamique synchrone à accès aléatoire et à débit de données double
DEPT135	amélioration sans distorsion par transfert de polarisation
DFT	théorie de la fonctionnelle de la densité

DLD-1	adénocarcinome colorectal humain
DMBA	7,12-dimethylbezn[a]anthracène
DMSO	diméthylsulfoxyde
E	énergie
ΔE	différence d'énergie
EA	<i>Enterobacter aerogenes</i>
EBV-EA	gène précoce du virus Epstein-Barr
EC	<i>Escherichia coli</i>
EC ₅₀	concentration efficace inhibant à 50 % de la prolifération virale
ECD	dichroïsme circulaire électronique
ED ₅₀	dose efficace inhibant à 50 % une activité
EDTA	acide éthylène diamine tétraacétique
EF	<i>Enterococcus faecalis</i>
EtOAc	acétate d'éthyle
eV	électronvolt
FID	détecteur à ionisation de flamme
ΔG	différence d'énergie libre de Gibbs
GC	chromatographie gazeuse
Go	gigaoctet
H ₂ O	eau
H ₂ SO ₄	acide sulfurique
HBSS	Hank's Balanced Salt Solution
HCT-116	adénocarcinome colorectal humain
HCT-15	adénocarcinome colorectal humain
HCV	virus de l'hépatite C
HE	huile essentielle
HeLa	adénocarcinome utérin humain
HepG2	carcinome hépatique humain
Hex	hexanes
HHDP	hexahydroxydiphényle
HHV-5	cytomégalovirus
HMBC	corrélacion hétéronucléaire à lien multiple
HPLC	chromatographie liquide à haute performance
hpi	heure post-infection
HRESIMS	spectrométrie de masse haute résolution à ionisation par électronébulisation
HSQC	corrélacion hétéronucléaire à simple quantum
HT-29	adénocarcinome colorectal humain
Hz	hertz
i.p.	intra-péritonéal

I.U.	unité internationale
IC ₅₀	concentration inhibant 50 % de l'activité
IR	infrarouge
jpi	jour post-infection
kJ	kilojoule
KP	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
L-929	fibroblaste murin
LASEVE	Laboratoire d'Analyse et de Séparation des Essences Végétales
LD ₅₀	dose létale pour 50 % de la population
LM	<i>Listeria monocytogenes</i>
LoVo	adénocarcinome colorectal humain
LPLC	chromatographie à basse pression
LPS	lipopolysaccharide
m	multiplet
<i>m/z</i>	ratio masse/charge
M4BEU+A119	mélanome humain
MCF7	adénocarcinome mammaire humain
MDA-MB-435	mélanome humain
Me	méthyle
MEL-28	mélanome humain
MEM	milieu minimum essentiel
MeOH	méthanol
CMI	concentration minimale inhibant complètement la prolifération
ML	<i>Micrococcus luteus</i>
MMFF	champ de force moléculaire de Merck
MS	spectrométrie de masse
MT-4	lymphocytes humain
NaCl	chlorure de sodium
n-BuOH	n-butanol
NF-κB	facteur de transcription
NIH3T3	fibroblaste murin
NOESY	spectroscopie de l'effet Overhauser nucléaire
NS3	protéase virale
ODS	octadécylsilane
OMe	méthoxyle
P-388	lymphome murin
PBS	solution de tampon phosphate
PC-3	adénocarcinome prostatique humain
PCA	analyse par composante principale
pfu	unité plage de lyse

PFNL	produit forestier non-ligneux
PGG	1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -galloyl- β -D-glucopyranoside
PrA	<i>Propionibacterium acnes</i>
PRL-3	protéine métastatique
PsA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
QDR	débit de données quadruple
QGY-7703	carcinome hépatique humain
QNP	sonde quadrinucléaire
q.s.p.	quantité suffisante pour
R	force rotationnelle
RAW264-7	macrophage leucémique murin
RC58T/h/SA#4	adénocarcinome prostatique humain
RMN	résonance magnétique nucléaire
ROESY	spectroscopie de l'effet Overhauser nucléaire dans un référentiel tournant
s	singulet
SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
SE	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
SGI	Silicon Graphics International
SiO ₂	gel de silice
SK-MEL-2, SK-MEL-5	mélanome humain
SK-OV-3	adénocarcinome ovarien humain
sp, sp ² , sp ³	hybridation du carbone
SQL	langage de requête structurée
TDDFT	théorie de la fonctionnelle de la densité dépendante du temps
THP-1	leucémie humaine
TMS	tétraméthylsilane
TNF	facteur de nécrose tumorale
TOCSY	spectroscopie de corrélation totale
TPA	acétate de tétradécanoylphorbol
TPCK	tosylphénylalanyle chlorométhyle cétone
Tris	trishydroxyméthylaminométhane
UVB	ultraviolet B
v/v	volume/volume
VIH	virus de l'immunodéficience
w	weak (faible)
WS1	fibroblaste normal humain
XF498	glioblastome humain
ZR-75-30	carcinome mammaire humain

CHAPITRE 1
INTRODUCTION GÉNÉRALE

La forêt boréale du Canada couvre 77 % du territoire forestier et donne du travail à plus de 361 000 personnes (en 2004) [1]. Son importance dans le paysage canadien est donc fondamentale. Au Québec, la forêt s'étend sur une large bande comprise entre les 48° et 58° degrés de latitude nord, ce qui représente 71 % de tout le territoire [2]. Cette forêt se compose principalement de conifères tels que l'épinette noire (*Picea mariana*), le pin gris (*Pinus banksiana*) et le sapin baumier (*Abies balsamea*), mais aussi de feuillus comme le bouleau blanc (*Betula papyrifera*) et le peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*). Cependant, en raison des conditions environnementales extrêmes de la forêt boréale (saisons de croissance courtes, sols peu fertiles et peu profonds, saturation en eau fréquente), la plupart des espèces sont des plantes à faible croissance [3]. Par exemple, on trouve en abondance des éricacées tels que le thé du labrador (*Ledum groenlandicum*), le kalmia à feuilles étroites (*Kalmia angustifolia*) ou les bleuets (*Vaccinium angustifolium*). Le nombre exact d'espèce dans la forêt boréale canadienne est difficile à évaluer puisqu'il n'existe pas d'index global pour le pays. Pour une vague idée, il suffit de consulter la flore du Yukon [4] qui recense 127 espèces de graminée (Poaceae), 118 espèces de composée (Compositae), 115 espèces de carex (Cyperaceae), 93 espèces de crucifère (Brassicaceae), 52 espèces de rosacée (Rosaceae), 46 espèces de caryophyllacée (Caryophyllaceae) et plusieurs autres espèces pour un total de 1112 espèces. Quant à la Flore Laurentienne, qui couvre les plantes de tout le Québec, incluant la forêt mixte, elle recense plus de 2800 espèces [5].

En 2012, environ 45 millions de m³ de matière ligneuses ont été récoltées dans la forêt québécoise et utilisées dans les industries de pâtes et papiers, de sciage, de fabrication de panneaux ou autres [6]. Ces activités ont généré des revenus estimés à 2,2 milliard \$ pour le Québec seulement. Parallèlement, la forêt boréale rend des services dans lesquelles la matière ligneuse n'est pas directement impliquée. D'abord, les activités récréotouristiques telles que la chasse, la pêche, le piégeage et l'écotourisme représente une part importante de ces activités avec des revenus estimés à 453 millions \$ (2012). La production de bleuets, de champignons, de sapins de Noël, d'huiles essentielles et de plantes médicinales, c'est-à-dire les produits forestiers non-ligneux (PFNL), représente également une part non négligeable. Le total des revenus pour ces activités a été estimé en 2003 à 320 millions \$ [7].

Les applications pharmaceutiques et cosméceutiques de la forêt boréale québécoise intéressent le laboratoire LASEVE depuis déjà plusieurs années [8-35]. Cet intérêt est justifié par une étude statistique phare dans le domaine, menée par une équipe de chercheurs de l'institut national du cancer des États-Unis, dans laquelle l'importance des produits naturels comme source de nouveaux

médicaments est démontrée [36]. De manière générale, on estime que 50 % de toutes les petites molécules ($< 5000 \text{ g mol}^{-1}$) approuvées pour un usage pharmaceutique entre 2000 et 2010 sont d'origine naturelle. Les travaux de recherche du laboratoire LASEVE s'inscrivent aussi dans le contexte du nouveau règlement sur les produits de santé naturels au Canada, entré en vigueur le 1^{er} janvier 2004 [37]. Ainsi, tout produit vendu pour un usage pharmaceutique doit être approuvé par Santé Canada. Pour ce faire, il faut présenter des renseignements détaillés quant à l'innocuité et l'efficacité de la préparation.

C'est ainsi que deux plantes ont attiré l'attention du laboratoire LASEVE : le sapin baumier (*Abies balsamea*) et le quatre-temps (*Cornus canadensis*). La première produit une oléorésine, appelée "gomme de sapin", qui contient une variété importante de composés chimiques. De plus, l'activité anticancéreuse évaluée au laboratoire s'est avérée intéressante ($IC_{50} 69 \pm 8, 72 \pm 4$ et $38 \pm 3 \mu\text{g ml}^{-1}$, pour A549, DLD-1 et WS1 respectivement) [38]. La deuxième plante, le quatre-temps, s'est révélée très active contre l'herpès buccal (HSV-1). En effet, un extrait hydroalcoolique a montré une EC_{50} de $9 \pm 3 \mu\text{g ml}^{-1}$ lors d'un test sur des cellules hôtes Vero [39]. On peut aisément supposer que ces bioactivités sont causées par une ou des substances qui constituent ces extraits.

Les hypothèses inhérentes à ce travail de recherche sont :

- L'activité anticancéreuse de l'oléorésine du sapin baumier (*Abies balsamea*) est causée par au moins une substance, elle-même anticancéreuse ;
- L'activité antiherpétique du quatre-temps (*Cornus canadensis*) est causée par au moins une substance, elle-même antiherpétique.

L'objectif principal était donc de valider ces hypothèses. Pour y arriver, plusieurs objectifs secondaires ont été fixés. Pour le sapin, ces objectifs étaient :

- Isoler les principes actifs de l'oléorésine du sapin baumier (*Abies balsamea*) ;
- Caractériser de manière précise la structure des composés isolés à partir de l'oléorésine du sapin ;
- Évaluer l'activité anticancéreuse des substances isolées.

Pour le quatre-temps, les objectifs secondaires étaient :

- Isoler les principes actifs du quatre-temps (*Cornus canadensis*) ;
- Caractériser de manière précise la structure des composés isolés à partir du quatre-temps ;
- Évaluer l'activité antiherpétique des substances isolées.

Afin d'atteindre ces objectifs, une somme importante de travaux ont dû être effectués au laboratoire. Une partie de ceux-ci ont été diffusés au fur et à mesure dans des journaux avec comité de lecture. La thèse est donc divisée en chapitre, dont certains sont sous la forme d'articles publiés.

Mais avant, une revue de la littérature exhaustive sur les genres *Abies* et *Cornus* sera présentée au chapitre 2. Une description botanique sera d'abord présentée pour chacune des deux plantes. Par la suite, l'ensemble des molécules connues dans ces plantes seront décrites. Celles-ci seront classées selon leur famille biosynthétique. Par la suite, les activités biologiques d'extraits ou de composés isolés à partir de ces plantes seront détaillées. On y trouvera notamment des activités anticancéreuses, antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires et antivirales.

Le chapitre 3 présentera un article publié dans *Organic Letters* et qui concernera l'isolement et la caractérisation de deux tétraterpènes à partir de l'oléorésine du sapin baumier. L'analyse détaillée des spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) et de cristallographie par rayon X sera résumée. La structure unique de ces composés a permis la proposition d'un mécanisme biosynthétique dans lequel une réaction de Diels-Alder est impliquée. Ce mécanisme sera aussi présenté dans l'article, en plus des activités biologiques des composés décrits.

Au cours des travaux sur l'oléorésine du sapin, d'autres composés, de natures triterpéniques, ont été identifiés. Leur structure a fait l'objet d'une publication dans *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. Celle-ci sera reproduite au chapitre 4. Les données RMN ainsi que les activités anticancéreuses de ces composés y seront consignées.

D'autres tétraterpènes ont été isolés dans l'oléorésine. Ceux-ci n'avaient pas été inclus dans le premier article parce que leur structure n'était pas complètement déterminée. En effet, certains éléments de stéréochimie manquaient et ceux-ci n'avaient pas pu être déterminés parce qu'il a été impossible de cristalliser ni l'une ni l'autre de ces nouvelles molécules. C'est donc grâce à une étude théorique *in silico* que les données extraites des spectres RMN ROESY ont pu être interprétées afin de déterminer les éléments de stéréochimie manquants. Une partie de ces résultats a été présentée à

la conférence *Trends in Natural Products Research*, tenue à Olomouc en République Tchèque. Le chapitre 5 présentera l'ensemble des résultats obtenus sur ce thème.

Le 6^e chapitre présentera enfin les résultats obtenus sur le fractionnement guidé par les bioessais d'un extrait hydroalcoolique de quatre-temps. Grâce à cette méthodologie, des tannins hydrolysables, tous connus dans la littérature, ont été isolés. Également, d'autres composés, des flavonoïdes glycosylés, ont été isolés à partir de fractions inactives. Leur caractérisation par RMN sera présentée en plus de leurs activités antivirales. En plus, les résultats d'une expérience *in vivo* seront présentés, suivis des résultats d'une étude temporelle visant à établir l'évolution chimique et biologique des extraits de quatre-temps au cours de la saison de croissance.

Les tannins isolés sont des structures relativement simples, construites autour d'une unité de D-glucose, bien que les tannins de manière générale puissent être très complexes. Des composés similaires ont donc été synthétisés avec des sucres autres que le D-glucose. La synthèse de ces molécules ainsi que leurs activités biologiques seront rapportées au chapitre 7.

Caractériser complètement les tannins de synthèse du chapitre 7 est un défi en soi. En effet, comme chaque molécule contient 4 ou 5 unités galloyles, il est difficile d'assigner chaque signal RMN aux bonnes unités galloyles. Heureusement, en utilisant des impulsions sélectives pour les spectres HSQC et HMBC, il a été possible d'augmenter considérablement la résolution des spectres 2D et rendre facile l'assignation des signaux. Ces résultats seront présentés au chapitre 8. Ils ont été écrits en anglais et dans un format prêt pour la publication dans le journal *Magnetic Resonance in Chemistry*.

Finalement, le chapitre 9 présentera la discussion générale et les principales conclusions tirées des résultats obtenus dans ce projet de recherche. Il y sera aussi discuté des développements futurs possibles et des travaux qui seraient nécessaire pour y arriver.

CHAPITRE 2

REVUE DE LA LITTÉRATURE

1. SAPINS

1.1. Considération botanique

Les sapins (genre *Abies*) sont des conifères qui appartiennent à la famille des Pinaceae, qui comprend aussi les pins (*Pinus*), les mélèzes (*Larix*), les épinettes (*Picea*) et les cèdres (*Tsuga*) [40]. Les sapins sont des arbres sempervirents¹, dont le profil a une forme de flèche ou d'un cône, mais s'aplatissant ou s'arrondissant avec l'âge [42]. L'écorce, d'abord mince et lisse et portant de nombreuses vésicules remplies de résines, se sillonne en vieillissant. Les branches sont verticillées² mais peuvent parfois apparaître de manière irrégulière à partir d'un bourgeon dormant. Les cicatrices foliaires sont apparentes et plus ou moins circulaires ou elliptiques. Les bourgeons sont ovoïdes ou oblongs, parfois résineux, et l'apex³ est arrondi ou pointu (figure 1A). Les feuilles, sessiles⁴, sont solitaires et persistent pour 5 années ou plus. Leur disposition sur la tige est spiralée mais les aiguilles sont généralement courbées à la base pour former des rameaux aplatis (figure 1B). Les aiguilles sur les branches végétatives sont plates, souvent avec une rainure adaxiale⁵ et généralement émarginées⁶ ou arrondies, alors que celles sur les branches fertiles sont parfois carrées, dressées et pointues ou arrondies à l'apex. Les cônes mâles (pollen) sont groupés, de formes ovoïdes ou oblongues et de couleurs jaunes, rouges, vertes, bleues ou violettes (figure 1C). Les cônes femelles (graines) entrent à maturité après une saison, ils ont une forme ovoïde à oblongue et tombent non pas entiers, mais écale par écale (figure 1D).

¹ Se dit d'un feuillage persistant [41].

² Ensemble partant tout d'un même niveau de l'axe qui les porte [43].

³ Sommet d'un organe [44].

⁴ Inséré directement sur l'axe, sans pédoncule [45]

⁵ Face supérieure de la feuille [46]

⁶ Très légèrement échancré au sommet [47].

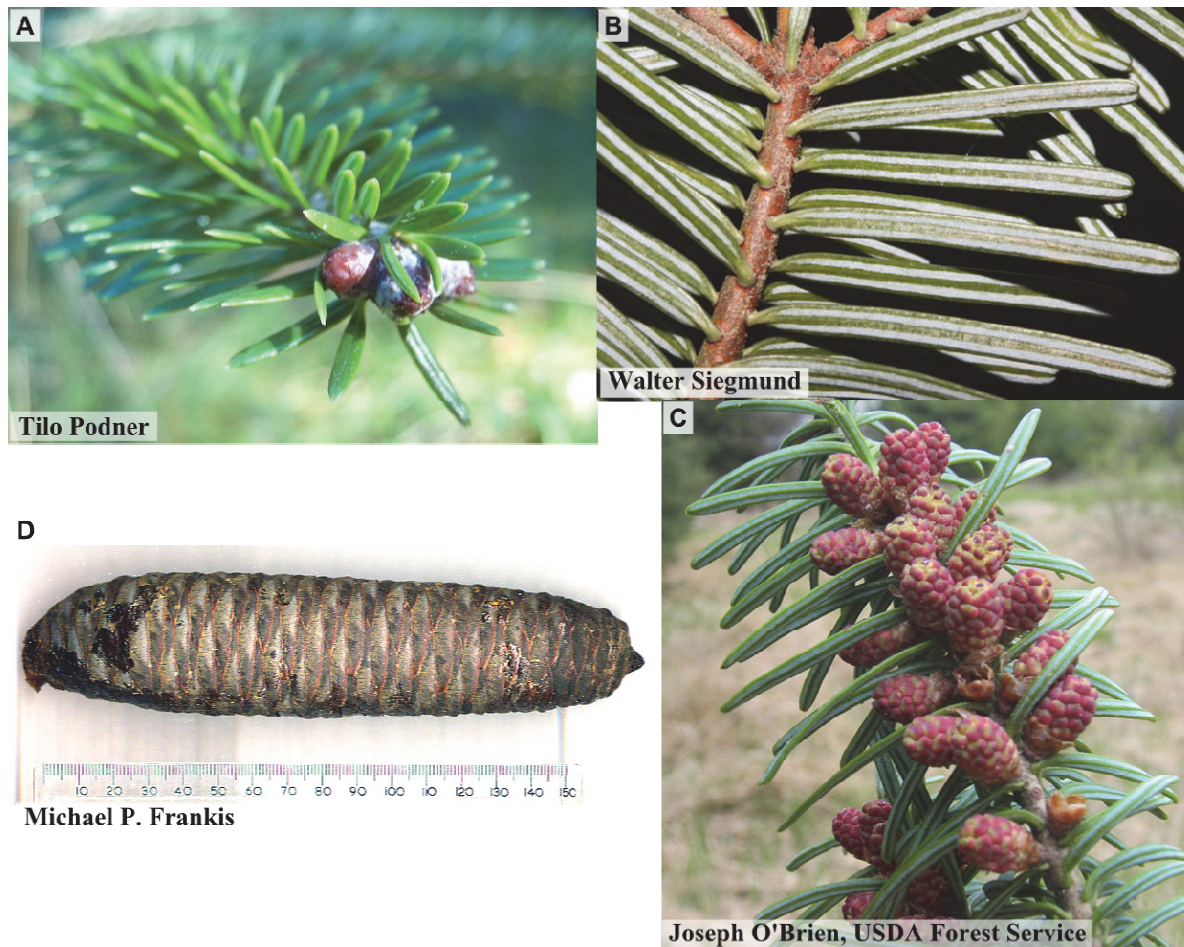


Figure 1 : Parties caractéristiques du genre *Abies*

A : Bourgeon d'*Abies fargesii*. B : Disposition spiralée des aiguilles d'*Abies grandis*. C : Cônes mâles d'*Abies balsamea*. D : Cône femelle d'*Abies pinsapo*.

Dans le genre sapin, plusieurs espèces traditionnellement reconnues sont pratiquement jumelles [42]. C'est le cas, par exemple, du sapin baumier (*A. balsamea*) et du sapin de Fraser (*A. fraseri*), ou du sapin rouge (*A. magnifica*) et du sapin noble (*A. procera*). Ainsi, il n'est pas rare de voir dans la littérature que deux espèces distinctes soient décrites ailleurs comme deux sous-espèces. Pour distinguer le sapin baumier des autres espèces, il faut vérifier les critères mentionnés dans le tableau 1 :

Tableau 1 : Critères d'identification des sapins

Parties	Critères pour <i>A. balsamea</i>	Remarques
Écorces	Jeunes lisses, vieilles sillonnées	<i>A. sachalinensis</i> et <i>A. veitchii</i> toujours lisse, <i>A. holophylla</i> et <i>A. homolepis</i> toujours sillonnées
Bourgeons	Résineux	Sauf pour <i>A. alba</i> et <i>A. nordmanniana</i> , et parfois pour <i>A. cephalonica</i> , <i>A. cilicica</i> et <i>A. holophylla</i>
Rameaux	Aucune fissure à la surface	<i>A. firma</i> , <i>A. holophylla</i> , <i>A. homolepis</i> , <i>A. nephrolepis</i> , <i>A. pinsapo</i> et <i>A. sachalinensis</i> ont une fissure
	Poilus	Sauf pour <i>A. bornmuelleriana</i> , <i>A. cephalonica</i> , <i>A. cilicica</i> , <i>A. fargesii</i> , <i>A. holophylla</i> , <i>A. homolepis</i> , <i>A. pinsapo</i> , <i>A. recurvata</i> .
Feuilles	Pas de stomates à la surface	Contrairement à <i>A. concolor</i> , <i>A. magnifica</i> , <i>A. pinsapo</i> , <i>A. procera</i>
	Stomates sous les feuilles	Contrairement à <i>A. borisii-regis</i> , <i>A. cilicica</i> , <i>A. concolor</i> , <i>A. firma</i> , <i>A. holophylla</i> , <i>A. lasiocarpa</i> , <i>A. pinsapo</i> , <i>A. recurvata</i>
	Canal résinifère au milieu	Tout comme <i>A. borisii-regis</i> , <i>A. cilicica</i> , <i>A. fargesii</i> , <i>A. firma</i> , <i>A. fraseri</i> , <i>A. holophylla</i> , <i>A. homolepis</i> , <i>A. koreana</i> , <i>A. lasiocarpa</i> , <i>A. magnifica</i> , <i>A. nephrolepis</i> , <i>A. pinsapo</i> , <i>A. sachalinensis</i> , <i>A. sibirica</i> , <i>A. veitchii</i>
Cônes	Bractées cachées	Contrairement à <i>A. alba</i> , <i>A. borisii-regis</i> , <i>A. bornmuelleriana</i> , <i>A. cephalonica</i> , <i>A. fargesii</i> , <i>A. firma</i> , <i>A. fraseri</i> , <i>A. precocera</i> , <i>A. veitchii</i> , <i>A. nephrolepis</i> , <i>A. nordmanniana</i> , <i>A. sachalinensis</i> , <i>A. koreana</i> , qui ont des bractées saillantes.

Les critères sont détaillés à la référence [48]

Grâce à ces critères phénotypiques [48], il a été possible de construire un organigramme permettant de repérer facilement les espèces les plus proches (figure 2). Il est intéressant de constater que le rapprochement de certaines espèces mentionnées par Richard S. Hunt dans le Flore de l'Amérique du Nord [42] ne semble pas si évident.

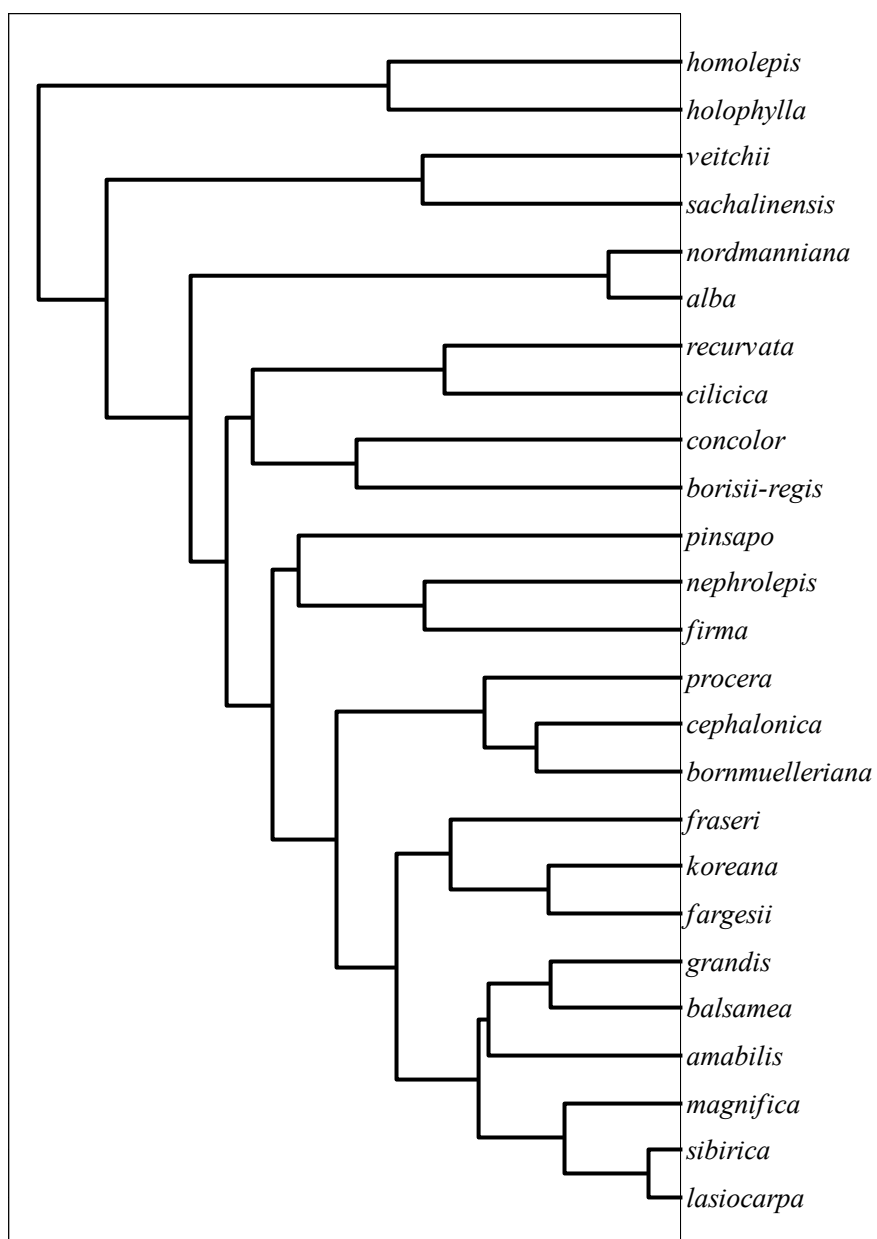


Figure 2 : Organigramme hiérarchique construit à partir des critères phénotypiques du tableau 1

1.2. Phytochimie

La phytochimie des sapins a été étudiée de manière soutenue durant le 20^e siècle et ce travail continu. Les résultats de ces nombreuses études ont été compilés mais de façon incomplète [49, 50]. Pour pallier à ce manque, une recherche exhaustive a été entreprise. D'abord, toutes les publications

rapportant la composition chimique de différentes parties d'un sapin ont été téléchargées. Ensuite, une banque de données a été construite avec le logiciel Microsoft Access [51].

Dans cette banque sont recensés 928 molécules, 46 espèces et 220 articles. La table principale contient donc 4148 entrées. Heureusement, grâce au langage SQL ("Structured Query Language", ou langage de requête structurée), il est facile d'effectuer des requêtes pour trouver des informations de différentes natures. Dans les sections suivantes, les structures des molécules décrites dans les différentes espèces de sapin seront présentées pour chacune des grandes familles (Annexe B, p. 77). Par la suite, un tableau indiquant dans quelles espèces du genre *Abies* ont été isolées ces molécules sera donné (Annexe C, p. 118). Mais avant d'aller plus loin dans ces sections, un aperçu des possibilités de cette banque de données est présenté au tableau 2. La requête suivante a permis de dénombrer les molécules isolées dans chaque espèce et ce, pour chacune des grandes familles de molécules.

```
SELECT espece, famille, Count(id) AS Nombre FROM (SELECT espece.nom AS espece,  
famille.nom AS famille, famille.ordre AS ordre, molecule.id AS id FROM famille INNER JOIN  
[sous-famille] INNER JOIN (molecule INNER JOIN (espece INNER JOIN principale ON  
espece.id = principale.espece) ON molecule.id = principale.molecule) ON [sous-famille].id =  
molecule.famille) ON famille.id = [sous-famille].famille GROUP BY espece.nom, famille.nom,  
famille.ordre, molecule.id) AS [%$##@_Alias] GROUP BY espece, famille, ordre ORDER BY  
espece, ordre ;
```

Tableau 2 : Nombre de molécules identifiées dans les différentes espèces d'*Abies*

Espèces	Abrév. ^a	Phénol	C ₁₀	C ₁₅	C ₂₀	C ₃₀	C ₄₀	Stérol	Autres	Total
<i>alba</i>	al	1	53	53	19	6	-	2	3	137
<i>amabilis</i>	am	22	17	23	3	-	-	-	-	65
<i>balsamea</i>	ba	1	36	37	10	12	2	-	7	105
<i>bifolia</i>	bi	-	1	8	-	-	-	-	-	9
<i>borisii regis</i>	br	8	21	10	-	-	-	-	1	40
<i>bornmuelleriana</i>	bm	-	30	20	3	-	-	-	2	55
<i>bracteata</i>	bt	-	19	15	-	-	-	-	-	34
<i>cephalonica</i>	ce	10	21	10	-	-	-	-	1	42
<i>chensiensis</i>	ch	29	2	-	13	8	-	-	-	52
<i>cilicica cilicica</i>	cc	3	40	30	4	-	-	-	1	78
<i>cilicica isaurica</i>	ci	-	29	22	3	-	-	-	1	55
<i>concolor</i>	co	8	30	26	-	-	-	1	3	68
<i>delavayi</i>	de	-	-	2	-	-	-	-	-	2
<i>equi-trojani</i>	et	3	35	25	11	-	-	-	13	87
<i>fabri</i>	fa	-	-	-	-	2	2	-	-	4
<i>firma</i>	fi	5	17	21	12	9	-	2	6	72
<i>forrestii</i>	fo	10	9	-	10	1	-	-	-	30
<i>fraseri</i>	fr	1	22	24	-	-	-	-	-	47
<i>georgei</i>	ge	73	4	3	76	20	-	1	5	182
<i>gracilis</i>	gr	-	16	18	-	-	-	-	-	34
<i>grandis</i>	gd	4	20	23	11	2	-	-	-	60
<i>holophylla</i>	ho	21	14	5	-	14	-	-	-	54
<i>homolepis</i>	hm	4	15	5	-	-	-	-	1	25
<i>koreana</i>	ko	16	41	58	3	4	-	2	6	130
<i>lasiocarpa</i>	la	-	20	41	3	-	-	-	-	64
<i>magnifica</i>	ma	-	21	30	-	-	-	-	-	51
<i>mariesii</i>	mi	12	26	5	-	25	-	1	1	70
<i>maroccana</i>	mr	18	5	23	24	6	-	2	1	79
<i>mayriana</i>	my	-	19	10	-	-	-	-	-	29
<i>nephrolepis</i>	ne	84	45	41	2	-	-	-	5	177
<i>nordmanniana</i>	no	-	26	26	19	-	-	1	1	73
<i>numidica</i>	nu	4	-	-	-	-	-	-	-	4
<i>pardei</i>	pa	-	5	-	-	-	-	-	-	5
<i>pindrow</i>	pd	18	-	-	7	1	-	2	2	30
<i>pinsapo</i>	ps	19	9	17	7	2	-	2	-	56
<i>procera</i>	pr	-	20	29	-	-	-	-	-	49
<i>recurvata</i>	re	-	-	-	-	19	-	-	-	19
<i>sachalinensis</i>	sa	33	62	49	10	20	-	2	20	196
<i>semenovii</i>	se	-	12	15	11	-	-	-	-	38
<i>sibirica</i>	si	49	24	12	14	45	-	1	-	145
<i>spectabilis</i>	sp	41	-	-	23	4	-	2	5	75
<i>squamata</i>	sq	1	28	8	-	-	-	-	3	40
<i>veitchii</i>	ve	5	26	8	-	9	-	-	2	50
<i>webbiana</i>	we	3	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>x arnoldiana</i>	xa	-	30	-	-	-	-	-	1	31
<i>yuanbaoshanensis</i>	yu	-	-	-	-	-	-	1	-	1
Total^b		283	114	167	139	149	4	6	66	928

^a Les abréviations sont utilisées dans les tableaux 10-17 pour représenter l'espèce. ^b Le total représente le nombre de molécules uniques identifiées dans le genre *Abies*.

1.2.1 Composés phénoliques⁷

Les composés phénoliques sont présents en grand nombre dans les différentes espèces de sapin (tableau 10). Ainsi, 7 stilbènes (**1-7**), 8 chalcones (**8-15**) (figure 6), 91 flavonoïdes (**16-106**) (figures 7-12), 85 lignanes (**107-191**) (figures 13-16) et 92 composés phénoliques simples (**192-283**) (figures 17-19) ont été rapportés dans 29 espèces (*A. alba* [52], *A. amabilis* [53, 54], *A. balsamea* [55], *A. borisii regis* [56], *A. cephalonica* [56], *A. chensiensis* [57], *A. cilicica cilicica* [58], *A. concolor* [59, 60], *A. equi-trojani* [61], *A. firma* [62], *A. forrestii* [63], *A. fraseri* [64], *A. georgei* [65, 66], *A. grandis* [60], *A. holophylla* [60, 67], *A. homolepis* [60], *A. koreana* [68-70], *A. mariesii* [71-73], *A. maroccana* [74], *A. nephrolepis* [75-80], *A. numidica* [60], *A. pindrow* [81-83], *A. pinsapo* [60, 84, 85], *A. sachalinensis* [86-97], *A. sibirica* [76-78, 98-102], *A. spectabilis* [103, 104], *A. squamata* [105], *A. veitchii* [60, 106], *A. webbiana* [107]). La plupart de ces composés ont été isolés par extraction avec un solvant polaire (acétone, éthanol ou méthanol) [63, 67, 83], mais certains étaient présents dans la partie volatile de la plante [61]. Plusieurs molécules ont été isolées sous forme de glycosides tels que les composés **3-4**, **6**, **13-15**, **23-24**, **28**, **31-34**, **36-37**, **39-40**, **43-55**, **57-71**, **73**, **75-77**, **80**, **84-92**, **112**, **154**, **162-163**, **165**, **170**, **173**, **174-179**, **181**, **222**, **225**, **228**, **233-236**, **244**, **254**, **256**, **258**, **269**, **277-278** et **280**. Finalement, certains composés sont uniques aux sapins tels que le chalcone **11** et les flavonoïdes **21**, **103** et **104**, isolés à partir d'extraits éthanoliques de la partie aérienne d'*A. georgei* [65, 66], les lignanes **140**, **142**, **162** et **173**, isolés à partir du bois d'*A. holophylla* [67], le flavonoïde **82** et le lignane **113**, isolés dans la partie aérienne d'*A. nephrolepis* [80], le chalcone **15**, isolé à partir d'un extrait éthanolique du bois d'*A. pindrow* [81], les spiro-biflavonoïdes **94** et **98-100** et le lignane **171**, isolés à partir d'un extrait chloroforme-méthanol de l'écorce d'*A. sachalinensis* [96], le flavonoïde C-glycosylé **80**, isolé de la partie aérienne d'*A. spectabilis* [103], et finalement, le flavonoïde **105**, isolé des feuilles d'*A. webbiana* [107].

1.2.2 Monoterpènes

Les composés monoterpéniques n'avaient pas été recensés dans l'article de revue de la littérature de Yang [50], ce dernier ne rapportant que les molécules isolées. En effet, la plupart des monoterpènes et des sesquiterpènes sont identifiés par GC-FID et GC-MS en utilisant des banques de données de spectre de masse et d'indice de rétention [108]. Ainsi, un total de 114 monoterpènes dont 17

⁷ L'*Abies balsamea* étant l'espèce étudiée dans cette thèse, elle est soulignée partout dans ce chapitre pour la mettre en évidence.

acycliques (**284-300**), 10 bornanes (**301-310**), 12 fenchanes (**313-324**) (figure 20), 2 caranes (**311-312**), 85 menthanes (**325-369**) (figures 21-22), 18 pinanes (**370-387**) et 10 thujanes (**388-397**) (figure 23) ont été identifiés. La plupart des espèces décrites dans cet article, soit 37 sur 46, ont été montrées comme contenant des monoterpènes (tableau 11) : *A. alba* [52, 109-116] *A. amabilis* [109, 117] *A. balsamea* [9, 13, 55, 109, 117-122] *A. borisii-regis* [112] *A. bornmuelleriana* [116, 123, 124] *A. bracteata* [109, 117] *A. cephalonica* [112] *A. chensiensis* [125] *A. cilicica cilicica* [58, 123] *A. cilicica isaurica* [58, 123] *A. concolor* [109, 115, 117, 120, 126, 127] *A. equi-trojani* [61, 123] *A. firma* [106, 128, 129] *A. forrestii* [109] *A. fraseri* [64, 109, 117, 118, 120, 122, 130-132] *A. georgei* [66] *A. gracilis* [133] *A. grandis* [109, 117, 120, 134] *A. holophylla* [116, 135] *A. homolepis* [129] *A. koreana* [115, 136-140] *A. lasiocarpa* [109, 117, 120, 126, 141] *A. magnifica* [109, 117, 120, 126, 142] *A. mariesii* [71, 109, 129] *A. maroccana* [143] *A. mayriana* [144, 145] *A. nephrolepis* [79, 144, 146-148] *A. nordmanniana* [123, 149] *A. pardei* [115] *A. pinsapo* [109, 116] *A. procera* [109, 117, 120] *A. sachalinensis* [95, 106, 109, 129, 144, 145, 150, 151] *A. semenovii* [152] *A. sibirica* [109, 153-155] *A. squamata* [105] *A. veitchii* [106, 109, 129] et *x arnoldiana* [156]. Contrairement aux composés phénoliques, la plupart des monoterpènes ont été identifiés à partir de l'huile essentielle des feuilles [124], des cônes [95], des tiges [147] et de l'écorce [121] ou directement à partir de l'oléorésine [130]. Très peu de monoterpènes sont caractéristiques du sapin : le fenchane **321** et le pinane **387** ont été isolés à partir d'un extrait éthanolique de la partie aérienne d'*A. georgei* [66].

1.2.3 Sesquiterpènes

Les terpènes les plus représentés du genre sapin sont les sesquiterpènes avec 167 molécules décrites. Ainsi, 9 sesquiterpènes acycliques (**398-406**), 2 aristolanes (**407-408**) (figure 24), 49 bisabolanes (**409-457**) (figures 24-26), 29 cadinanes (**458-486**) (figures 26-27), 6 caryophyllanes (**487-492**), 3 cédranes (**493-495**), 2 érémophilanes (**496-497**) (figure 27), 25 eudesmanes (**498-522**) (figure 28), 5 germacrane (**523-527**), 11 guaïanes (**528-538**), 9 himachalanes (**539-547**) (figure 29), 5 humulanes (**548-552**) et 12 autres sesquiterpènes (**553-564**) (figure 30) ont été identifiés dans 35 espèces de sapin (tableau 12) : *A. alba* [52, 110, 112-116, 157, 158], *A. amabilis* [117], *A. balsamea* [9, 13, 55, 117, 119, 121, 122, 159-162], *A. bifolia* [162], *A. borisii-regis* [112], *A. bornmuelleriana* [116, 123, 124], *A. bracteata* [117], *A. cephalonica* [112], *A. cilicica cilicica* [58, 123], *A. cilicica isaurica* [58, 123], *A. concolor* [117, 127], *A. delavayi* [163, 164], *A. equi-trojani* [61, 123], *A. firma* [106, 128, 129], *A. fraseri* [64, 117, 122, 131, 132], *A. georgei* [66], *A. gracilis* [133], *A. grandis* [117], *A. holophylla* [116, 165], *A. homolepis* [129], *A. koreana* [136-140], *A. lasiocarpa* [117, 162,

166], *A. magnifica* [117, 142, 167], *A. mariesii* [71, 129], *A. maroccana* [143, 168, 169], *A. mayriana* [145], *A. nephrolepis* [79, 146-148], *A. nordmanniana* [123, 149, 170], *A. pinsapo* [116, 171, 172], *A. procera* [117], *A. sachalinensis* [88, 94, 95, 106, 129, 145, 150, 151, 173-175], *A. semenovii* [152], *A. sibirica* [154, 155, 176], *A. squamata* [105], *A. veitchii* [106, 129]. La plupart de ces composés ont été identifiés à partir de l'huile essentielle des feuilles [124], de l'écorce [121], des tiges [147], des racines [129] ou directement à partir de l'oléorésine [158]. Un groupe de sesquiterpènes, des molécules de la famille des bisabolanes avec un acide carboxylique en position 1, est représentatif des sapins. Parmi ce groupe, la plupart n'ont été décrites que dans le genre sapin : les molécules **419-420**, **422-426**, **428**, **431-436**, **440-441**, **443-444**, **449-456**. Ces molécules ont toutes été isolées à partir du bois d'*A. alba* [110], *A. balsamea* [161, 162], *A. bifolia* [162], *A. holophylla* [165], *A. lasiocarpa* [162, 166], *A. pinsapo* [171] et *A. sachalinensis* [88, 94, 150, 173, 175]. Deux autres molécules de la famille des bisabolanes, soit les composés **455** et **456**, ont été isolés à partir d'*A. delavayi* [163, 164].

1.2.4 Diterpènes

Les sapins contiennent un très grand nombre de composés diterpéniques, soit 76 abiétanes (**565-640**) (figures 31-33), 2 kauranes (**641-642**) (figure 33), 26 labdanes (**643-668**) (figures 33-34), 9 pimaranes (**669-677**) (figure 34), 20 podocarpanes (**678-697**) et 6 autres diterpènes (**698-703**) (figure 35). Ces composés ont été isolés à partir de 23 espèces (tableau 13), soit *A. alba* [52, 114, 177-179], *A. amabilis* [180], *A. balsamea* [180-182], *A. bornmuelleriana* [123], *A. chensiensis* [125], *A. cilicica cilicica* [58, 123], *A. cilicica isaurica* [123], *A. equi-trojani* [61, 123], *A. firma* [128, 183], *A. forrestii* [63], *A. georgei* [184, 185], *A. grandis* [134, 180], *A. koreana* [137, 138], *A. lasiocarpa* [166, 180], *A. maroccana* [168, 169, 186], *A. nephrolepis* [79], *A. nordmanniana* [123, 149, 170], *A. pindrow* [83], *A. pinsapo* [172], *A. sachalinensis* [94, 95, 187, 188], *A. semenovii* [152], *A. sibirica* [176, 189-193], *A. spectabilis* [103]. Les diterpènes sont distribués dans toutes les parties de la plante, soit dans les feuilles [123], l'écorce [83], le bois [169], les racines [193], les graines [183] et l'oléorésine [182]. Plusieurs composés de cette famille ont été décrits uniquement dans le sapin. Tout d'abord, un extrait éthanolique de la partie aérienne d'*A. georgei* a permis l'identification des nouveaux abiétanes **571**, **576**, **579**, **581-582**, **584**, **607-613**, **615-617**, **622** et **638-640** et du nouveau labdane **663** [185], ainsi que des nouveaux podocarpanes **678-680**, **682**, **684**, **686-688**, **691-693** et **695-697** [184]. Les nouveaux diterpènes **613**, **628**, **663** et **684** ont été identifiés dans la partie aérienne d'*A. spectabilis* [103]. Également, l'extrait à l'hexane des feuilles d'*A. maroccana* a permis l'identification du nouveau

labdane **650** [168]. L'oléorésine d'*A. balsamea* contient le podocarpane **680** [182]. Finalement, la partie aérienne d'*A. forrestii* contient les deux nouveaux secoditerpènes **702-703** [63].

1.2.5 Triterpènes

La présence de triterpènes a été rapportée dans plusieurs espèces de sapin (tableau 14), soit *A. alba* [194-197], *A. balsamea* [182, 198], *A. chensiensis* [125], *A. fabri* [199], *A. firma* [62, 183, 200, 201], *A. forrestii* [63], *A. georgei* [202], *A. grandis* [203, 204], *A. holophylla* [165], *A. koreana* [69, 205], *A. mariesii* [71, 200, 206-211], *A. maroccana* [168, 169, 186], *A. pindrow* [212], *A. pinsapo* [172], *A. recurvata* [213], *A. sachalinensis* [214-219], *A. sibirica* [176, 220-236], *A. spectabilis* [103, 104], *A. veitchii* [237-240]. Parmi les triterpènes identifiés, il y a 31 cycloartanes (**704-734**) (figures 36-37), 3 ursanes (**735-737**), 7 gammacérane (**738-744**) (figure 37), 2 hopanes (**745-746**) (figure 38) et 106 lanostanes (**747-852**) (figures 38-43), pour un total de 149 molécules. L'extraction de la plupart d'entre elles a été effectuée à partir de l'écorce ou des feuilles en utilisant l'éther comme solvant. Beaucoup de triterpènes isolés dans le genre *Abies* sont uniques. Par exemple, le groupe représenté par les molécules **823-847** n'est rencontré nulle part ailleurs que dans les sapins.

1.2.6 Tétraterpènes

Très récemment, des tétraterpènes ont été décrits dans deux espèces de sapin (tableau 15). Les composés **853** et **854** ont été identifiés à partir d'un extrait éthanolique de la partie aérienne d'*A. fabri* [199]. Il est intéressant de noter que le mécanisme biosynthétique proposé par Li implique une réaction de Diels-Alder entre le myrcène (**299**) et l'acide 8(14→13*R*)*abéo*-lanosta-8,14(30),24*E*-triène-3,23-dion-26-oïque (**820**). Les deux autres tétraterpènes, **855** et **856**, ont été isolés à partir de l'oléorésine du sapin baumier [198].⁸ De la même manière, ces composés ont probablement été biosynthétisés via une réaction de Diels-Alder entre le myrcène (**299**) et l'acide abiésonique (**838**), tous les deux isolés à partir du sapin baumier [55, 198].

Cette famille de molécules est très rare. Bien évidemment, il existe un grand nombre de molécules en C₄₀, mais la plupart sont des dérivés du β-carotène [241, 242]. Ces derniers sont biosynthétisés par un couplage de type tête-à-tête de deux unités de géranylgeranyl pyrophosphate

⁸ La publication de ces deux tétraterpènes fait partie intégrante de cette thèse et est reproduite intégralement au chapitre 3 (p. 155).

[243]. La genèse de certains autres tétraterpènes peut aussi être expliquée par le couplage de deux unités diterpéniques déjà formées [244-246].

1.2.7 Stérols

Très peu de stérol, soit six (**857-862**), ont été identifiés dans le genre *Abies* (tableau 16). Seulement les espèces *A. alba* [110, 177, 194], *A. firma* [62, 128], *A. georgei* [66], *A. koreana* [69, 205], *A. mariesii* [73], *A. maroccana* [169], *A. nordmanniana* [170], *A. pindrow* [83], *A. pinsapo* [172], *A. sachalinensis* [94, 188], *A. sibirica* [235], *A. spectabilis* [103] et *A. yuanbaoshanensis* [247] sont connus pour en contenir. L'ergostane **862** a été décrit pour la première fois à partir d'un extrait à l'hexane dans le bois d'*A. pinsapo* [172].

1.2.8 Autres composés

Plusieurs autres composés ont été décrits dans les sapins mais ceux-ci n'ont pu être classés dans l'une des familles précédentes. Ainsi, 22 alcanes (**863-884**), 15 acides gras (**885-899**), 4 ionones (**900-903**), 3 alcaloïdes (**904-906**) et 22 autres composés (**907-928**) ont été rapportés en tant que constituant chimique pour 19 espèces de sapin (tableau 17), soit : *A. alba* [112, 114], *A. balsamea* [119, 248-250], *A. borisii regis* [112], *A. bornmuelleriana* [123, 124], *A. cephalonica* [112], *A. cilicica cilicica* [123], *A. cilicica isaurica* [123], *A. equi-trojani* [61, 123], *A. firma* [62, 129], *A. georgei* [66], *A. homolepis* [129], *A. koreana* [137-139], *A. mariesii* [129], *A. maroccana* [169], *A. nephrolepis* [148], *A. nordmanniana* [123], *A. pindrow* [83, 251], *A. sachalinensis* [95, 129, 150], *A. spectabilis* [103], *A. squamata* [105], *A. veitchii* [106, 129], *A. x arnoldiana* [156]. La plupart de ces composés ont été identifiés dans la partie aérienne à partir de l'huile essentielle [95, 105, 106, 112, 123, 124, 129, 137, 148, 156]. Étonnamment, le composé **915** n'a été isolé que dans le sapin baumier [119, 248].

1.3. Activités biologiques

Les autochtones du Canada utilisaient déjà le sapin pour soulager plusieurs symptômes. Ainsi, les Ojibwa, les Algonquin, les Montagnais et les Micmac utilisaient des préparations à base de sapin pour traiter des maux de tête, des problèmes dermatologiques, l'irritation des yeux, des faiblesses, des plaies ou des blessures, des diarrhées, des abcès ou des furoncles, des maux de dos, des rhumatismes, des enflures et des problèmes cardiaques [252].

1.3.1 Activités antibactériennes

Les maladies associées aux infections bactériennes sont très nombreuses. On peut citer par exemple le botulisme, le choléra, la maladie de Lyme, la syphilis, le tétanos et la tuberculose. Bien que ces organismes semblent relativement faciles à combattre, la rapidité avec laquelle ils développent une résistance implique la découverte constante de nouveaux agents antibiotiques. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de différentes espèces de sapin a été évaluée en utilisant deux techniques, soit la concentration minimale inhibant à 100 % la prolifération bactérienne en tube (CMI, tableau 3) ou le diamètre de la zone d'inhibition de la prolifération bactérienne sur disque (tableau 4). Selon les résultats publiés dans les différentes études, les huiles essentielles présentent peu d'intérêt. Par exemple, l'huile essentielle produite à partir des écorces d'*A. equi-trojani* s'est avérée inactive, et ce, même à 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ [61]. Bağci *et al.* ont rapporté une activité qu'ils qualifient d'élevée pour la sous-espèce *nordmanniana* d'*A. nordmanniana* [253]. En effet, la zone d'inhibition du test d'activité antibactérienne sur disque mesurait entre 15 et 16 mm (à 3 $\mu\text{g disque}^{-1}$). Les souches sur lesquelles l'huile s'est avérée active sont *Bacillus megaterium* et *B. subtilis*. Par contre, l'autre sous-espèce, soit la *bornmuelleriana*, présentait une activité réduite.

Certains composés isolés ont aussi été testés. Ainsi, le β -caryophyllène (**491**) et l' α -humulène (**550**) ont démontré une activité sélective contre les *Staphylococcus aureus* [13]. Deux composés phénoliques (**834** et **840**) ont montré une activité intéressante contre *S. aureus* et *Bacillus cereus* [214]. Il est intéressant de remarquer que dans la même étude, des composés de mêmes natures se sont avérés inactifs.

Tableau 3 : Activité antibactérienne (CMI) d'échantillons préparés à partir de différentes espèces de sapin^a

Échantillon	Gram –			Gram +										Réf.
	EC	KP	PsA	EF	BC	BS	PrA1	PrA2	PrA3	SA	SE1	SE2	SE3	
HE aiguille <i>A. balsamea</i>	> 100	-	-	-	-	-	-	-	-	56	-	-	-	[13]
HE écorce <i>A. equi-trojani</i>	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500	-	-	-	-	> 500	-	-	-	[61]
HE aiguille <i>A. koreana</i>	-	-	-	-	-	-	> 100	> 100	> 100	-	> 100	> 100	> 100	[140]
HE aiguille <i>A. koreana</i>	> 100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	> 100	-	[139]
myrcène (299)	> 20	-	-	-	-	-	-	-	-	> 20	-	-	-	[13]
bornéol (301)	> 20	-	-	-	-	-	-	-	-	> 20	-	-	-	[13]
acétate de bornyle (303)	> 20	-	-	-	-	-	> 100	> 100	> 100	> 20	> 100	> 100	> 100	[13, 140]
camphène (318)	> 20	-	-	-	-	-	> 100	> 100	> 100	> 20	> 100	> 100	> 100	[13, 140]
Δ^3 -carène (311)	> 20	-	-	-	-	-	-	-	-	> 20	-	-	-	[13]
α -terpinéol (326)	> 20	-	-	-	-	-	-	-	-	> 20	-	-	-	[13]
terpinolène (352)	> 20	-	-	-	-	-	-	-	-	> 20	-	-	-	[13]
limonène (354)	> 20	-	-	-	-	-	> 100	> 100	> 100	> 20	> 100	> 100	> 100	[13, 140]
α -pinène (370)	13,6	-	-	-	-	-	> 100	> 100	> 100	13,6	> 100	> 100	> 100	[13, 140]
β -pinène (377)	> 20	-	-	-	-	-	-	-	-	> 20	-	-	-	[13]
β -caryophyllène (491)	> 20	-	-	-	-	-	-	-	-	5,1	-	-	-	[13]
α -humulène (550)	> 20	-	-	-	-	-	-	-	-	2,6	-	-	-	[13]
lanostane 834	-	-	-	-	-	12,5	-	-	-	12,5	-	-	-	[214]
abiésanolide A (840)	-	-	-	-	-	12,5	-	-	-	12,5	-	-	-	[214]
abiésanolide B (842)	-	-	-	-	-	> 200	-	-	-	> 200	-	-	-	[214]
abiésanolide C (844)	-	-	-	-	-	> 200	-	-	-	> 200	-	-	-	[214]
abiésanolide D (846)	-	-	-	-	-	> 200	-	-	-	> 200	-	-	-	[214]

^a Activité exprimée par la concentration minimum pour inhiber la prolifération bactérienne (CMI, $\mu\text{g ml}^{-1}$). Les souches bactériennes sont : EC : *Escherichia coli* ; EF : *Enterococcus faecalis* ; BC : *Bacillus cereus* ; BS : *Bacillus subtilis* ; KP : *Klebsiella pneumoniae* ; PsA : *Pseudomonas aeruginosa* ; PrA1 : *Propionibacterium acnes* (ATCC3314) ; PrA2 : *Propionibacterium acnes* (SK4) ; PrA3 : *Propionibacterium acnes* (SK7) ; SA : *Staphylococcus aureus* ; SE1 : *Staphylococcus epidermidis* (SK4) ; SE2 : *Staphylococcus epidermidis* (SK9) ; SE3 : *Staphylococcus epidermidis* (SK19).

Tableau 4 : Activité antibactérienne (disque) d'échantillons préparés à partir de différentes espèces de sapin^a

Échantillon	Qté ^b	Gram –						Gram +										Ref
		AF	EA	EC	KP	PsA	BB	BCe	BCi	BL1	BL2	BM	BS	LM	ML	SA		
HE <i>A. alba</i>	3	-	0	0	0	0	0	0	-	-	-	0	0	0	-	0	[253]	
HE <i>A. koreana</i>	3	-	8	0	10	9	9	7	-	-	-	12	9	14	-	8	[253]	
HE <i>A. firma</i>	3	-	0	0	0	0	0	0	-	-	-	0	0	0	-	0	[253]	
HE <i>A. concolor</i>	3	-	0	0	0	0	0	0	-	-	-	0	0	0	-	0	[253]	
HE <i>A. pinsapo</i>	3	-	0	0	0	0	0	0	-	-	-	0	0	0	-	0	[253]	
HE <i>A. cilicica cilicica</i>	3	-	11	0	11	12	12	8	-	-	-	12	9	13	-	0	[253]	
HE <i>A. cilicica isaurica</i>	3	-	7	0	9	11	9	7	-	-	-	10	8	9	-	7	[253]	
HE <i>A. nordmanniana</i>	3	-	11	0	11	11	11	8	-	-	-	11	10	11	-	0	[253]	
HE <i>A. nordmanniana nordmanniana</i>	3	-	10	0	0	7	7	9	-	-	-	15	16	8	-	12	[253]	
laricirésinol (120)	1 000	0	-	-	-	0	-	-	0	0	0	0	0	-	0	0	[85]	
(8 <i>R</i> ,8' <i>R</i>)-4,4',9-trihydroxy-3,3'-diméthoxy-9,9'-époxy lignane (137)	1 000	0	-	-	-	0	-	-	0	0	0	0	0	-	0	0	[85]	
matairésinol (145)	1 000	0	-	-	-	0	-	-	0	0	0	0	0	-	0	0	[85]	
sesquipinsapol A (190)	1 000	0	-	-	-	0	-	-	0	0	0	0	0	-	0	0	[85]	

^a Activité exprimée par le diamètre de la zone d'inhibition de la prolifération bactérienne (mm). Les souches bactériennes sont : *AF* : *Alcaligenes faecalis* ; *BB* : *Bacillus brevis* ; *BCe* : *Bacillus cereus* ; *BCi* : *Bacillus circulans* ; *BL1* : *Bacillus licheniformis* (CECT20) ; *BL2* : *Bacillus licheniformis* (CECT491) ; *BM* : *Bacillus megaterium* ; *BS* : *Bacillus subtilis* ; *EA* : *Enterobacter aerogenes* ; *EC* : *Escherichia coli* ; *KP* : *Klebsiella pneumoniae* ; *LM* : *Listeria monocytogenes* ; *ML* : *Micrococcus luteus* ; *PsA* : *Pseudomonas aeruginosa* ; *SA* : *Staphylococcus aureus* ; ^b Quantité déposée sur le disque (µg)

1.3.2 Activités antifongiques

Quelques auteurs ont effectué des tests d'activité antifongique. Dans la plupart des cas, les tests sont peu concluants. Ainsi, Yoneyama *et al.* ont évalué l'activité de la juvabione (**427**), une substance obtenue à partir de l'huile essentielle du bois d'*A. sachalinensis*, sur des champignons comestibles (*Flammulina velutipes*, *Grifola frondosa*, *Lentinus edodes*, *Pholiota nameko*, *Pleurotus cornucopiae*, *Pleurotus ostreatus*) [174]. Les IC₅₀ varient entre 27 et 341 µg ml⁻¹, la plus forte activité étant contre le *Pleurotus ostreatus*.

Dans une autre étude, le maltol (**243**), le composé majoritaire d'un extrait au CO₂ supercritique d'aiguille d'*A. mariesii*, s'est avéré très légèrement actif (0,95-1,00 mg ml⁻¹) contre une série de champignons reliés à l'agriculture (*Tricoderma harzianum*, *Fusarium sporotorichloides*, *Aspergillus niger* et *Penicillium italicum*) [72]. Dans la même étude, il a aussi été démontré que le maltol (**243**) inhibait la germination des graines de radis, de luzerne, de laitue et de haricot mungo.

En 1994, Barrero *et al.* ont testé l'activité de différents composés isolés à partir d'un extrait à l'hexane du bois d'*A. pinsapo* [85]. Ainsi, le laricirésinol (**120**), le (8*R*,8'*R*)-4,4',9-trihydroxy-3,3'-diméthoxy-9,9'-époxygignane (**137**), le mataïrésinol (**145**) et le sesquipinsapol A (**190**) se sont montrés inactifs contre *Aspergillus niger* et *Penicillium A*.

Bağci *et al.* ont testé une série d'huiles essentielles de sapin (*A. alba*, *A. koreana*, *A. firma*, *A. concolor*, *A. pinsapo*, *A. cilicica cilicica*, *A. cilicica isaurica*, *A. nordmanniana bornmüelleriana* et *A. nordmanniana nordmanniana*) contre deux souches de champignons, soit le *Saccharomyces cerevisiae* et le *Candida albicans* [253]. Pour ce faire, ils ont utilisé la technique du disque, sur lequel ils ont déposé 3 µg d'huile. Les espèces *A. alba*, *A. firma*, *A. concolor* et *A. pinsapo* se sont avérées inactives. Pour les autres espèces, elles ont induit une zone d'inhibition d'un diamètre variant entre 7 et 23 mm, sachant que cette mesure inclut le disque (6 mm). Les huiles les plus actives proviennent des deux sous-espèces *nordmanniana* et *bornmüelleriana* d'*A. nordmanniana*. De plus, l'huile d'*A. cilicica* a montré une activité moyenne de 17 à 19 mm dans cette étude. Kiran *et al.* ont testé cette même huile sur *Phytophthora capsici* et ont obtenu une activité comparable (16 mm, à 4 µg d'huile) [254].

D'autres résultats négatifs ont été rapportés pour les huiles essentielles d'*A. koreana* et *A. equitrojani*. La première huile a été testée contre le *Candida tropicalis* et s'est avérée inactive ($> 500 \mu\text{g ml}^{-1}$) [61]. La deuxième huile s'est avérée active, mais à très forte concentration (CMI 2,1-3,8 mg ml^{-1}) [139].

1.3.3 Activités anti-inflammatoires

L'inflammation est une réaction normale du système immunitaire contre différentes agressions. Dans le plupart des cas, cette réaction permet de défendre le corps contre l'agression et éventuellement, d'entamer le processus de guérison [255]. Ce phénomène est régulé par un large éventail de médiateurs [256] qui peuvent tous subir des dérèglements, conduisant ainsi à des pathologies très variées. C'est pourquoi la recherche de molécules ayant des activités anti-inflammatoires est très active.

C'est ainsi que l'activité anti-inflammatoire de plusieurs composés issus d'études phytochimiques sur le sapin a été publiée. Certaines molécules se sont avérées intéressantes (tableau 5), mais leur comparaison est difficile lorsque des tests différents ont été utilisés. Par contre, certaines molécules ont été testées de la même manière ce qui permet une comparaison. Par exemple, une dose de $50 \mu\text{g ml}^{-1}$ de matairésinol (**145**) s'est avérée insuffisante pour inhiber 50 % de la production de NO sur les macrophages RAW264.7 [66]. Effectivement, sur des cellules de type BV-2 (cellules microgliales murines), une dose de $58 \mu\text{g ml}^{-1}$ a été nécessaire pour inhiber à 50 % la production de NO [67]. Ces derniers résultats sont cohérents, tout comme ceux obtenus pour le (+)-isolaricirésinol (**111**) [70, 80], le maltol (**243**), le β -D-glucopyranoside de maltol (**244**) [66, 70], le rhododendrol (**276**) et le frambinone (**279**) [66, 70, 80].

Les composés suivants ont été testés mais n'ont démontré aucune activité : **1** [66], **3** [66, 80], **4** [80], **6**, **10-11** [66], **16-17** [65], **19** [65, 80], **22** [66], **23** [80], **25** [66], **26-27** [66, 80], **31** [70, 80], **33-34** [80], **35** [66, 80], **39** [80], **41-43** [66], **44** [66, 80], **47** [80], **52** [66], **53** [80], **61** [66], **62-63** [80], **64** [66], **65**, **70**, **73-74** [80], **76** [66, 80], **79**, **81**, **83** [80], **84** [66, 80], **86-87**, **90-92**, **94**, **103**, **110** [66], **111** [80], **115**, **120** [66], **128** [80], **129** [66], **130** [80], **133-134**, **136** [66], **145**, **152** [66, 80], **153-154** [80], **155-156** [66], **158** [80], **159** [66, 80], **159**, **161**, **163**, **166-168**, **170** [80], **175** [67], **186** [66, 80], **191** [80], **195** [66], **213-214**, **216** [80], **217**, **220**, **226** [66, 80], **229-232**, **238-239**, **242-244**, **247-249** [66], **250** [80], **251**, [66], **252** [66, 80], **255** [66], **262** [66, 70, 80], **276-279** [66, 80], **281** [66], **282-**

283 [80], 321, 312 [66], 366 [80], 376, 387, 410, 445-446 [66], 452 [165], 571, 574-576, 579-581, 583-584, 588, 590, 594, 599-603, 605-613, 621, 623-627, 629, 638-640, 643, 644, 646, 661, 663 [185], 678, 688-689[184], 726, 728-729, 732-733, 735-737, 749-750, 756-758, 769, 788-790[202], 858, 886, 894, 896, 923 [66].

Tableau 5 : Activité anti-inflammatoire d'échantillons préparés à partir de différentes espèces de sapin

Échantillon	Test ^a	Conc. ^b ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Inhib. ^c (%)	IC ₅₀ ^d ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Survie ^e ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Réf.
HE <i>A. koreana</i>	A	12,5	69			[140]
EtOAc <i>A. georgei</i>	B	50	47			[257]
épicatechine (18)	A	10 ^f	7,2		> 100 ^f	[70]
(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-(+)-glucodistylène (28)	A			24,2		[80]
naringine (32)	A	10 ^f	14,8		> 100 ^f	[70]
flavonoïde 40	A			34,7		[80]
3-O- β -rutinoside de quercétine (48)	A			34,2		[80]
3-O- β -D-rutinoside de rhamnazine (71)	A			28,4		[80]
flavonoïde 75	A			20,9		[80]
flavonoïde 82	A			42,5		[80]
flavonoïde 89	A			59,6		[66]
abiésinol E (93)	A	100	75	> 50	> 100	[57, 66]
3,2'-épi-larixinol (101)	A	100	26		-	[57]
3-épi-larixinol (102)	A	100	38		-	[57]
abiésanol A (104)	A	50	43		> 50	[65]
sécoisolaricirésinol (107)	A, F	10 ^f	0,2	44,0	> 100 ^f	[70]
(+)-isolaricirésinol (111)	A	10 ^f	20,2		> 100 ^f	[70]
(+)-isolaricirésinol 9'-férulate (113)	A			13,7		[80]
α -conidendrine (117)	F			28,5		[67]
tanégool (123)	F			72,4		[67]
holophyllol C (140)	F			43,1		[67]
holophyllol A (141)	F			36,4		[67]
holophyllol B (142)	F			43,8		[67]
pseudolarkaemine A (143)	F			44,7		[67]
mataïrésinol (145)	A			> 50		[80]
mataïrésinol (145)	F			58,0		[67]
5-hydroxytrachélogénine (147)	A			47,2		[80]
lignane 162	F			31,0		[67]
lignane 173	F			122,8		[67]
isomassonanoside B (174)	F			166,7		[67]
lignane 176	F			32,9		[67]
junipérigiside (177)	F			253,1		[67]

Échantillon	Test ^a	Conc. ^b ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Inhib. ^c (%)	IC ₅₀ ^d ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Survie ^e ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Réf.
lignane 178	F			178,7		[67]
lignane 179	F			58,5		[67]
lignane 180	A			47,4		[80]
lignane 181	A			45,2		[80]
<i>o</i> -crésol (201)	A			34,7		[66]
maltol (243)	A	10 ^f	26,7		> 100 ^f	[70]
β -D-glucopyranoside de maltol (244)	A	10 ^f	0,4		> 100 ^f	[70]
1- <i>O</i> -coumaroyl- β -glucose (256)	A			23,1		[80]
isoférulaldéhyde (260)	A			19,0		[66]
rhododendrol (276)	A	10 ^f	6,6		> 100 ^f	[70]
frambinone (279)	A	10 ^f	16,3		> 100 ^f	[70]
abiésesquine A (453)	A	50	69,9		> 50	[165]
abiéspiroside A (455)	A	100	35			[164]
cycloabiésesquine A (456)	A	100	41		> 100	[163]
abiésadine V (582)	A, B			56,8, > 100		[185]
abiétane 585	A, B			61,6, > 100		[185]
abiésadine K (615)	A, B			52,1, > 100		[185]
abiésadine H (616)	A, B			83,4, > 100		[185]
abiésadine S (617)	A, B			49,0, > 100		[185]
acide déhydroabietique (619)	A, B			42,7, > 100		[185]
abiétane 620	A, B			76,4, > 100		[185]
abiésadine P (622)	A, B			94,1, > 100		[185]
abiétane 630	A, B			44,0, > 100		[185]
abiétane 635	A	50	23		53,4	[184]
abiétane 636	A, B			63,0, > 100		[185]
labdane 653	A, B			21,6, 8,7		[185]
labdane 653	A			1,9	0,6	[125]
labdane 655	A	50	34		60,3	[184]
manool (659)	A			9,6	32,3	[125]
manool (659)	A, B			11,0, > 100		[185]
abiésadine Y (664)	A, B			48,5, 22,4		[185]
abiésanordine C (680)	A	50	9		35,4	[184]
abiésanordine N (693)	A	50	82		41,7	[184]
abiéséconordine A (702)	A	100	72,7			[63]
abiéséconordine B (703)	A	100	64,7			[63]
abieslactone (752)	D	50	2,9			[258]
acide (24 <i>Z</i>)-firmanoïque (759)	A			8,9		[202]
acide firmanoïque (760)	A			17,6		[202]
acide isofirmanoïque (761)	A			19,8		[202]
néoabieslactone E (809)	A			9,1	20	[125]

Échantillon	Test ^a	Conc. ^b ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Inhib. ^c (%)	IC ₅₀ ^d ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Survie ^e ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Réf.
lanostane 810	C	100	80,4			[210]
lanostane 812	C	100	84,0			[210]
déhydrovomifoliol (901)	A			30,2		[66]
pinitol (928)	E	10	65,6			[251]

^a Type de test effectué : A : inhibition de la production de NO induite par le LPS sur des macrophages RAW264.7 ; B : Inhibition de l'activité de NF- κ B induit par le TNF α sur des cellules pNF- κ B-luc-293 ; C : inhibition du gène précoce du virus Epstein-Barr (EBV-EA) induit par le TPA sur des cellules Raji ; D : inhibition de l'incorporation du phosphate inorganique (³²P_i) dans les phospholipides induit par le TPA sur des cellules HeLa ; E : inhibition de la formation d'œdème sur les pattes de rat induite par la carraghénine ; F : inhibition de la production de NO induite par le LPS sur des cellules BV-2 ^b Concentration utilisée pour le test ^c Inhibition du marqueur de l'inflammation ^d Concentration qui inhibe à 50 % la production du marqueur de l'inflammation ^e Concentration nécessaire pour tuer 50 % des cellules utilisées pour le test ^f En μM .

1.3.4 Activités anticancéreuses

Environ la moitié des Canadiens développeront un cancer au cours de leur vie et un quart en décèderont. Ces statistiques font du cancer la cause principale de décès chez les Canadiens [259]. Pour les hommes, le cancer de la prostate est le plus fréquent (24,5 %) alors que le cancer du sein touche plus souvent les femmes (26,1 %). Viennent ensuite les cancers du poumon (13,6 %) et colorectaux (12,7 %). Il apparaît donc évident que de nouveaux traitements contre ces maladies soient nécessaires. Les études phytochimiques sur le sapin sont donc très souvent complétées par des tests d'activité anticancéreuse.

L'une des façons les plus simples pour vérifier le potentiel anticancéreux d'un composé est d'évaluer sa cytotoxicité contre des lignées cellulaires cancéreuses. Ces tests *in vitro* sont souvent effectués en parallèle sur des lignées cellulaires saines afin de déterminer en même temps l'innocuité du composé. Le tableau 6 recense tous les résultats obtenus lors d'études de cytotoxicité effectuées sur les composés isolés dans le genre *Abies*. La liste se limite aux études qui portent spécifiquement sur le sapin.

Les composés suivants ont aussi été testés mais n'ont démontré aucune activité : **1, 3, 6, 22, 25-27, 35, 41-44, 52, 61, 64, 76, 84, 86-87, 91, 93-94, 103, 110, 115** [66], **120** [66, 85], **121-122** [85], **129, 133-134, 136** [66], **137** [85], **145** [66, 85], **152, 155-156, 159, 186, 195, 201, 217, 220, 226, 229-232, 238-239, 242** [66], **243** [66, 69], **244, 247-249, 251-252, 255, 260, 262** [66], **268** [69], **276-279, 281** [66], **299, 301, 303, 305, 309, 318** [9], **321** [66], **311** [9], **312** [66], **326, 328, 344, 352, 354, 357, 370** [9], **376** [66], **377** [9], **387**, [66], **410** [66, 176], **445-446** [66], **490-491** [9], **571** [185], **573** [182],

574 [185], **575** [176, 185], **576**, **579-585**, **588** [185], **590** [176, 185], **594** [185], **599** [176], **600**, **602-603**, **605-613** [185], **614** [176], **615**, **617**, **619** [185], **620** [182, 185], **621-627**, **630** [185], **631** [176], **632** [182], **636**, **638-640**, **643** [185], **646** [176], **655** [176, 182], **659** [176, 185], **663** [185], **666**, **680** [182], **700** [176], **708** [165], **712**, **714** [182], **718-719**, **721** [176], **726** [202, 213], **727** [213], **728**, **729** [202, 213], **730-731** [213], **732** [202], **734** [213], **736-737** [202], **749** [202, 213], **750** [202], **752** [211], **756** [202], **757** [213], **758** [202], **760** [182, 202, 213], **761** [202], **772** [176], **783** [165], **788** [213], **789** [202, 213], **790** [202], **792**, **795** [213], **797**, **804** [176], **806**, **808**, **818**, **821** [213], **823-826**, **828**, **831-832**, **841** [182], **844** [165], **858** [66, 69], **860** [69], **886**, **894**, **896**, **901**, **923** [66].

Tableau 6 : Cytotoxicité d'échantillons préparés à partir de différentes espèces de sapin

Échantillon	Lignée cellulaire ^a	L1 ^b	L2 ^b	L3 ^b	L4 ^b	Réf.
CHCl ₃ <i>A. georgei</i>	A549, LoVo, QGY-7703, 6T-CEM	77,5	7,8	11,1	32,8	[257]
HE <i>A. balsamea</i>	A549, DLD-1, MCF-7, PC-3	1100	1400	1100	1700	[9]
HE <i>A. balsamea</i>	M4BEU, Fibro, L-929, CT-26	800	3100	1600	760	[9]
flavokawine (10)	QGY-7703	31,3				[66]
chalcone 11	QGY-7703	17,6				[66]
flavonoïde 89	QGY-7703	30,2				[66]
sténopalustroside D (90)	QGY-7703	31,5				[66]
sténopalustroside A (92)	QGY-7703	39,1				[66]
(9'R)-9'-hydroxylaricirésinol (125)	A549, HT-29, P-388, CV-1	> 5	5	> 5	> 5	[85]
(7'S)-todolactol A (138)	A549, HT-29, P-388, CV-1	5	5	> 5	5	[85]
sesquimarcanol B (187)	A549, HT-29, MEL-28, P-388	2,5	> 5	5	2,5	[74]
sesquimarcanol A (188)	A549, HT-29, MEL-28, P-388	2,5	> 5	10	2,5	[74]
sesquipinsapol C (189)	A549, HT-29, P-388, CV-1	> 5	> 5	2,5	> 5	[85]
α -humulène (550)	A549, DLD-1, MCF-7, PC-3	5	4,8	14,9	5,3	[9]
α -humulène (550)	M4BEU, Fibro, L-929, CT-26	3,9	4,7	4,3	2,7	[9]
déhydroabiétinol (599)	LoVo, QGY-7703	9,2	> 25			[185]
abiéta-8,11,13-triène-7 α ,18-diol (601)	LoVo, QGY-7703	9,2	> 25			[185]
abiésadine H (616)	LoVo, QGY-7703	10,6	> 25			[185]
acide 7-oxocallitrisique (629)	LoVo, QGY-7703	> 25	10,2			[185]
13-épiscloréol (644)	LoVo, QGY-7703	13	> 25			[185]
cis-abiéanol (646)	LoVo, QGY-7703	20,3	25			[185]
labdane 653	LoVo, QGY-7703	23,1	15,7			[185]
torréfêol (661)	LoVo, QGY-7703	24,3	> 25			[185]
abiésadine Y (664)	LoVo, QGY-7703	10,6	> 25			[185]
acide isomangiférolique (711)	A549, LoVo, COLO-205, QGY-7703	29	57	37,3	18,6	[165]

Composé	Lignée cellulaire ^a	L1 ^b	L2 ^b	L3 ^b	L4 ^b	Réf.
acide mangiféronique (713)	A549, LoVo, COLO-205, QGY-7703	37,4	46,7	40,4	21,9	[165]
cycloartane 722	A549, SK-OV-3, HCT-15, SK-MEL-2	2,9	3	3	3,2	[69]
cycloartane 723	A549, LoVo, COLO-205, QGY-7703	6,1	11,7	2	1,3	[165]
cycloartane 724	A549, LoVo, COLO-205, QGY-7703	69,6	> 100	1,9	86,1	[165]
lanostane 725	A549, LoVo, COLO-205, QGY-7703	45,4	55,8	42,8	23,6	[165]
cycloartane 733	LoVo, QGY-7703	> 20	14,4			[202]
acide ursolique (735)	LoVo, QGY-7703	14,7	7,6			[202]
abiésatrane H (757)	LoVo, QGY-7703	> 20	20,4			[202]
acide (24Z)-firmanoïque (759)	LoVo, QGY-7703	18,2	21,8			[202]
acide firmanoïque (760)	A549, COLO-205, QGY-7703, THP-1	> 100	0,9	> 100	> 100	[176]
lanostane 763	A549, LoVo, COLO-205, QGY-7703	14,9	58,6	37	16,9	[165]
lanostane 766	A549, SK-OV-3, HCT-15, SK-MEL-2	4,1	23	7,9	9,2	[205]
abiésatrane A (769)	LoVo, QGY-7703	> 20	9,9			[202]
lanostane 772	A549, SK-OV-3, HCT-15, SK-MEL-2	56	43,6	65,5	25,1	[69]
lanostane 774	A549, HCT116, ZR-75-30, MDA-MB-435	11,7	2,9	3,9	7,2	[199]
pindrolactone (785)	A549, LoVo, COLO-205, QGY-7703	13,5	1,9	0,4	0,9	[165]
abiésatrane B (788)	LoVo, QGY-7703	> 20	15,2			[202]
lanostane 820	A549, HCT116, ZR-75-30, MDA-MB-435	15,8	3,5	8,9	12	[199]
lanostane 820	A549, COLO-205, QGY-7703, THP-1	61,2	60,2	17,8		[213]
lanostane 823	A549, SK-OV-3, HCT-15, SK-MEL-2	28,3	20,9	30,4	29,9	[205]
acide abiésolidique (826)	A549, LoVo, COLO-205, QGY-7703	19,3	24,9	22	23	[165]
lanostane 828	A549, LoVo, COLO-205, QGY-7703	16,1	25	18,2	11,2	[165]
lanostane 829	A549, LoVo, COLO-205, QGY-7703	15,3	22,8	17,5	7,3	[165]
lanostane 832	A549, LoVo, COLO-205, QGY-7703	89,3	33,9	3	2,5	[165]
acide abiesonique (838)	A549, DLD-1, WSI	10,6	> 50	14,5		[198]
acide abiesonique (838)	A549, DLD-1, WSI	10,6	> 10	> 10		[182]

Composé	Lignée cellulaire ^a	L1 ^b	L2 ^b	L3 ^b	L4 ^b	Réf.
abiétrane A (853)	A549, HCT116, ZR-75-30, MDA-MB-435	10,6	14	6,3	30,6	[199]
abiétrane B (854)	A549, HCT116, ZR-75-30, MDA-MB-435	10,3	11,8	1,6	17,6	[199]
abibalsamine A (855)	A549, DLD-1, WSI	13,6	> 50	> 50		[198]
abibalsamine B (856)	A549, DLD-1, WSI	5,4	9,5	9,3		[198]

^a Les lignées cellulaires sont : A549 : carcinome pulmonaire humain, SK-OV-3 : adénocarcinome ovarien humain, HCT-15, LoVo, DLD-1, HT-29, COLO-205, HCT116 : adénocarcinome colorectal humain, QGY-7703 : carcinome hépatique humain, MCF7 : adénocarcinome mammaire humain, ZR-75-30 : carcinome mammaire humain, PC-3 : adénocarcinome prostatique humain, SK-MEL-2, MEL-28, MDA-MB-435, M4BEU : mélanome humain, THP-1, 6T-CEM : leucémie humaine, Fibro, WSI : fibroblaste normal humain, L-929, CT-26 : fibroblaste murin, P-388 : lymphome murin, CV-1 : fibroblaste simien ; ^b IC₅₀ en µg ml⁻¹ sur les lignées cellulaires mentionnées dans la colonne précédente

Les topoisomérases sont des protéines impliquées dans la structure topologique de l'ADN. Comme les cellules cancéreuses se divisent de manière incontrôlée, les topoisomérases sont très actives dans ce type de cellule. Cela en fait donc une cible pharmacologique de choix dans le traitement du cancer. C'est pourquoi Wada *et al.* ont mesuré le pouvoir inhibiteur des topoisomérases de type I et II d'une série de lanostanes isolés à partir d'écorce d'*A. sachalinensis* [215]. Ainsi, l'acide abiésolidique (**37**), aussi isolé dans l'oléorésine d'*A. balsamea* [182], s'est avéré efficace pour inhiber la topoisomérase de type II avec une IC₅₀ de 42,6 µM. Cette valeur est comparable à l'étoposide (50 µM), un lignane utilisé dans le traitement du cancer.

Les tests *in vitro* ont leurs limites : la substance peut ne pas être absorbée, elle peut être dégradée par une voie métabolique quelconque, mais elle peut aussi être activée par une autre voie métabolique. C'est pourquoi rien ne vaut un test *in vivo* pour vérifier l'efficacité d'un composé. Dans ce contexte, Takayasu *et al.* ont vérifié le potentiel antitumoral de l'abieslactone (**752**) [258]. Pour ce faire, une application topique de 7,12-diméthylbenz[a]anthracène (DMBA), un initiateur cancéreux, a été effectuée sur des souris une semaine après le début de leur acclimatation. Par la suite, des applications de 12-*O*-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA), un promoteur cancéreux, étaient réalisées de manière bihebdomadaire. Le développement de tumeurs a été complètement empêché dans le groupe de souris traitées avec l'abieslactone (**752**). Dans un protocole similaire, Wada *et al.* ont évalué le potentiel antitumoral d'un spiro-biflavanoïde [97]. Cette fois, l'initiateur cancéreux était le peroxy-nitrile et ce dernier, ainsi que le promoteur (TPA), étaient administrés par injection intrapéritonéale. Un groupe de souris pouvait boire une eau dans laquelle était dissous l'abiésinol A (**312**). Ces souris ont vu l'apparition de papillomes réduite de moitié.

1.3.5 Autres activités

En 1966, il a été démontré qu'une famille de composés appartenant aux bisabolanes était en mesure de moduler la croissance de certains insectes [159]. Pour ce faire, la juvabione (**427**) a été déposée directement sur des nymphes de *Pyrrhocoris apterus* qui en étaient à leur dernier stade larvaire (5 µg insecte⁻¹). Cela a provoqué une mue additionnelle chez les insectes et ceux-ci sont morts avant de passer au stade adulte. Il est intéressant de noter que cette activité est très sélective puisque des larves d'autres insectes (*Leptocoris trivittatus*, *Oncopeltus fasciatus* et *Lygaeus kalmii*) ont montré un développement normal en présence de cette molécule. Dans une deuxième étude, l'activité d'autres molécules a été évaluée [161]. Ainsi, les isomères de juvabiols (**425** et **426**) et le 4'-

déhydrojuvabione (**448**) se sont avérés actifs ($IC_{50} = 5,6$ et $5,0 \mu\text{g/insecte}$, respectivement) chez *P. apterus*. Cette fois, les larves de *Dysdercus cingulatus* ont aussi réagi à ces molécules ainsi qu'au juvabione ($IC_{50} = 4,7$, $2,0$ et $2,3 \mu\text{g/insecte}$, respectivement).

L'activité antioxydante de certains extraits de sapin a été testée avec le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH). D'un côté, les extraits inactifs, soit l'huile essentielle d'*A. equi-trojani* avec une IC_{50} de $440 \mu\text{g ml}^{-1}$ [61] ainsi que le beta-sitostérol (**858**), isolé à partir d'un extrait éthanolique d'*A. yuanbaoshanensis*, avec une IC_{50} de $6298 \mu\text{g ml}^{-1}$ [247]. Contrairement à ce qu'affirment les auteurs de ces études, on ne peut considérer ces préparations comme étant particulièrement antioxydantes, sachant que la quercétine, par exemple, affiche une IC_{50} de $4,8 \mu\text{g ml}^{-1}$ [260]. Dans une autre étude, un extrait méthanolique d'*A. spectabilis* s'est avéré intéressant ($IC_{50} = 4,13 \mu\text{g ml}^{-1}$), contrairement à un extrait chloroformique préparé à partir de la même matrice végétale [104].

Les activités biologiques présentées à la suite sont plus marginales. D'abord, un extrait méthanolique d'*A. webbiana*, lorsque administré oralement ($400\text{-}600 \text{ mg kg}^{-1}$) à des souris exposées au dioxyde de soufre (SO_2), a réduit de 61-66 % la fréquence de la toux [261]. Plus tard, Nayak *et al.* [262], en voulant déterminer la dose létale (LD_{50}) de leurs extraits méthanoliques d'*A. webbiana*, ont observés un effet sédatif. En poussant davantage de ce côté, ils ont réalisé qu'une dose intrapéritonéale (i.p.) d'extrait (200 mg kg^{-1}) augmentait d'un facteur 3,7 la durée de la période de sommeil induite par le pentobarbitone. Au passage, les auteurs ont mesuré la LD_{50} d'extraits méthanoliques, chloroformiques et d'éther de pétrole à 1200, 1600 et $> 3200 \text{ mg kg}^{-1}$. Finalement, une dernière étude montre l'effet anxiolytique de l'huile essentielle d'*A. sachalinensis* [151]. Pour arriver à cette conclusion surprenante, un dispositif permettant de mesurer l'anxiété des souris a été utilisé. Les animaux ont été traités soit par injection i.p. ($300\text{-}600 \text{ mg kg}^{-1}$) ou soit par inhalation ($1,8\text{-}3,6 \mu\text{g ml}^{-1}$). Étonnamment, une diminution significative de l'anxiété a été observée seulement lorsque l'HE était inhalée. Des analyses quantitatives de camphène (**318**), d' α -pinène (**370**) et de β -pinène (**377**) ont été réalisées pour le sang et le cerveau. Bien que la concentration sanguine de ces trois composés fût identique pour les souris traitées par injection ou par inhalation, les cerveaux présentaient en moyenne 3,5 fois plus de monoterpènes lorsque les souris étaient traitées par inhalation. Ceci explique pourquoi l'effet anxiolytique différerait selon le mode d'administration.

2. CORNUS

2.1. Considération botanique

Le quatre-temps, ou cornouiller du Canada (*Cornus canadensis* L.), fait partie de la famille des Cornaceae, qui comprend plus d'une centaine d'espèces à travers le monde [263]. Ce nombre est toutefois contesté. Par exemple, la flore chinoise estime que seul le genre *Cornus* appartient à cette famille ce qui engloberait environ 55 espèces [264]. Au Québec, on rencontre six espèces [5], avec notamment l'osier rouge, ou *Cornus sericea sericea* L., ou *Cornus stolonifera* Michaux (figure 3).

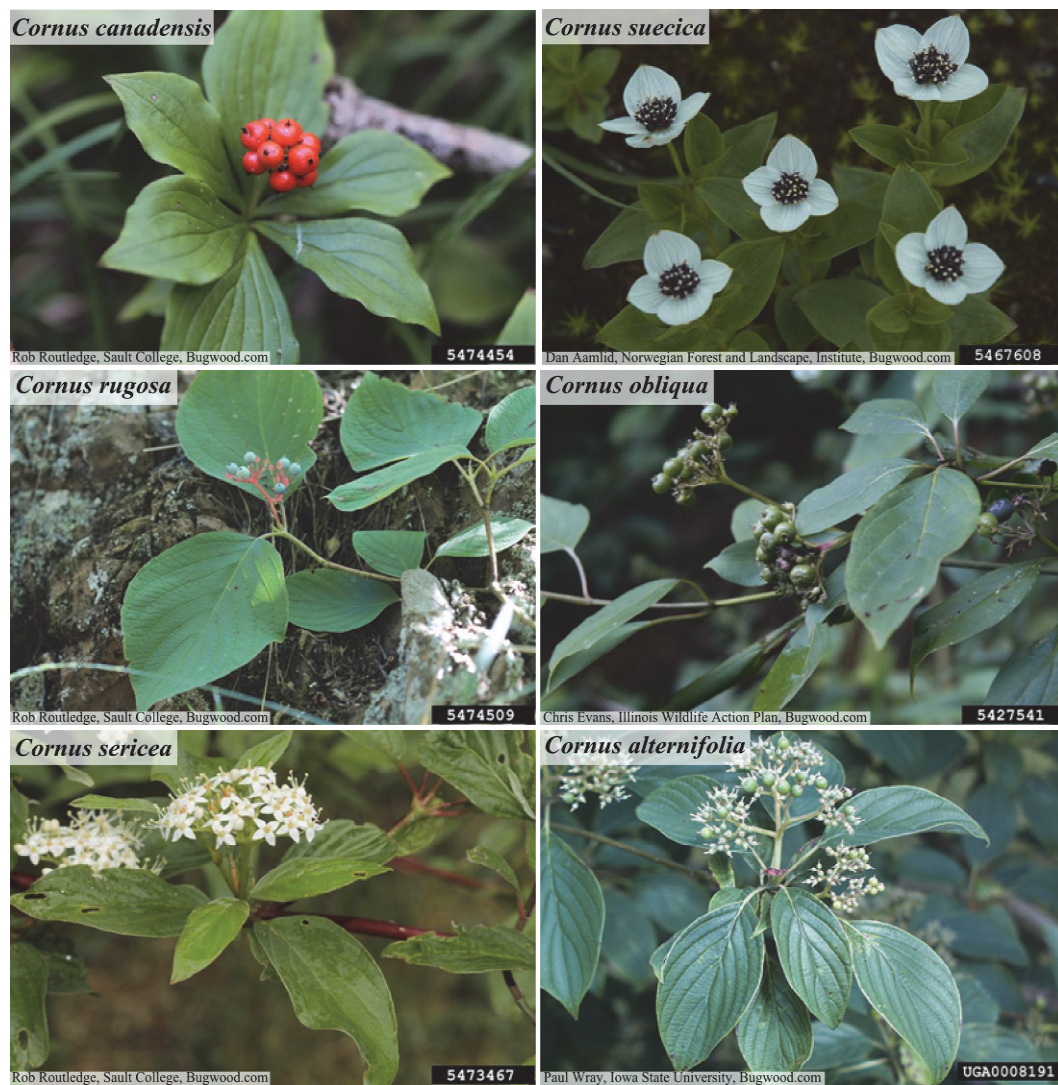


Figure 3 : Les six espèces de *Cornus* rencontrées au Québec

Le quatre-temps, avec le *C. suecica* et le *C. unalaschensis*, sont les seuls membres de la famille qui ne sont pas un arbuste ou un arbre, comme le *C. sericea*, ou le *C. alternifolia* [265]. Le *C. canadensis* est une plante herbacée rhizomateuse dont la tige, longue de 7 à 20 cm, porte en son sommet un verticille de 4 ou 6 feuilles opposées et de forme ovales [5, 264]. Les fleurs sont petites, verdâtres et sont insérées les unes à côté des autres par groupe de 10 à 25 sur un réceptacle [266]. Cet ensemble est entouré de quatre bractées de couleur blanche et ayant la même forme que les feuilles (figure 4a). Les fruits rouges, de forme sphérique, sont comestibles (figure 4b). La floraison a lieu entre les mois de mai et juillet, tandis que les fruits apparaissent entre les mois de juillet et octobre. Il est intéressant de mentionner que les plantes stériles possèdent 4 feuilles tandis que celles qui portent des fleurs et des fruits en possèdent 6.

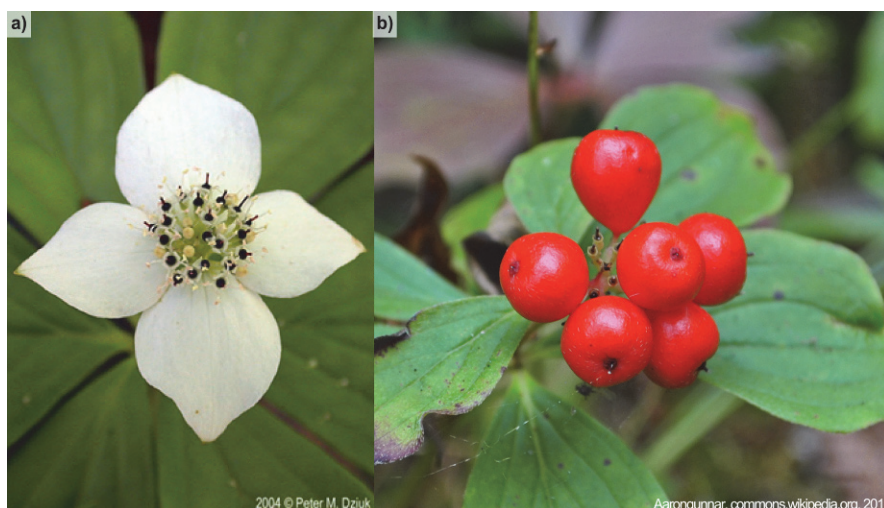


Figure 4 : Fleur typique du quatre-temps (*Cornus canadensis*)

La partie aérienne du quatre-temps est la prolongation d'un rhizome latérale qui peut mesurer jusqu'à 2 m et pousser jusqu'à 30 cm par année [266]. Le rhizome, de 0,2 à 1 mm en diamètre, pousse en général dans le sol minéral, à une profondeur comprise entre 4 et 13 cm.

L'habitat du quatre-temps est extrêmement variable. D'abord, son aire de distribution est pratiquement circumboréale. On retrouve la plante dans toutes les provinces et les territoires du Canada. On la retrouve également dans tous les états du nord des États-Unis, et même à de hautes altitudes dans les états du Colorado et du Nouveau-Mexique. On trouve du cornouiller aussi bien dans des forêts de conifères que dans des forêts de feuillus ou mixtes, dans des landes, des tourbières ou

des champs. Au Québec, on le retrouve dans les forêts d'épinette rouge et de bouleau jaune du sud et dans les forêts de sapin baumier des régions plus nordiques [266].

2.2. Phytochimie

La littérature associée à la phytochimie du genre *Cornus* a été recensée de la même manière que pour le sapin (voir 1.2, page 40). Ainsi, le nombre de molécules isolées à ce jour pour chacune des 14 espèces étudiées est présenté au tableau 7. Les structures des composés seront trouvées à l'annexe D (p. 158) et des informations détaillées seront présentées à l'annexe E (p. 168).

Tableau 7 : Nombre de molécules identifiées dans les différentes espèces de *Cornus*

Espèces	Abrév. ^a	Phénol	Iridoïdes	Terpènes	Stérol	Autres	Total
<i>alba</i>	al	5	-	-	-	-	5
<i>canadensis</i>	cn	14	4	-	-	-	18
<i>capitata</i>	cp	7	4	11	4	4	30
<i>controversa</i>	co	7	-	-	-	1	8
<i>florida</i>	fl	-	2	1	3	-	6
<i>kousa</i>	ko	11	1	1	2	-	15
<i>macrophylla</i>	mc	2	-	-	-	-	2
<i>mas</i>	ms	19	4	-	-	3	26
<i>nuttallii</i>	nu	-	2	-	-	-	2
<i>officinalis</i>	of	34	10	1	-	3	48
<i>stolonifera</i>	st	-	-	-	-	2	2
<i>suecica</i>	su	10	2	-	-	-	12
<i>unalaschkensis</i>	un	6	-	-	-	-	6
<i>walteri</i>	wa	-	-	14	-	6	20
Total		79	21	26	9	18	153

^a Les abréviations sont utilisées dans les tableaux subséquents pour représenter l'espèce. ^b Le total représente le nombre de molécules uniques identifiées dans le genre *Cornus*.

Il faut savoir que la plupart des composés ont été isolés dans les fruits de *C. officinalis* [267, 268] et *C. mas* [269, 270]. En effet, ces deux espèces sont des arbres qui produisent des fruits similaires à des cerises. D'ailleurs, selon la médecine traditionnelle chinoise, les fruits mûrs de *C. officinalis* sont cueillis à l'automne, plongés dans l'eau bouillante pendant plusieurs minutes, dénoyautés puis séchés [271]. Les fruits de *C. mas* entre dans l'alimentation des habitants de plusieurs pays [272, 273].

2.2.1 Composés phénoliques⁹

Les composés phénoliques est la famille la mieux représentée dans les *Cornus*. Ainsi, 18 flavonoïdes (**19-20**, **41-44**, **48-50**, **52-53**, **55**, **929-934**) (figures 7, 8 et 48) 15 anthocyanes (**935-949**) (figure 48), 8 lignanes (**120**, **152**, **950-955**) (figures 13, 14 et 49), 33 tannins (**956-988**) (figures 50-52) et 5 phénols simples (**224**, **255**, **259**, **989-990**) (figures 18, 19 et 53) ont été isolés dans 10 espèces (*C. alba* [274], *C. canadensis* [275, 276], *C. capitata* [277-280], *C. controversa* [281, 282], *C. kousa* [283-286], *C. macrophylla* [287], *C. mas* [269, 270, 282, 288-291], *C. officinalis* [267, 282, 292-301], *C. suecica* [276, 302], *C. unalaschkensis* [276]) (tableau 18). Ces composés ont été trouvés pour la plupart dans les fruits [267, 269] ou dans les feuilles [287, 291]. Certains composés ont été isolés uniquement dans le genre *Cornus*. C'est le cas de trois anthocyanes, soit les composés **939**, isolé à partir des fruits de *C. mas* [288] et *C. canadensis* [275], **943**, isolé à partir des fruits de *C. suecica* [302], et **946**, isolé à partir des fruits de *C. alba* [274]. Également, une étude sur les feuilles de *C. controversa* a permis l'isolement des tannins **958** et **959**. Le composé **971** a été identifié seulement dans les feuilles de *C. officinalis* [294] tandis que les composés **981** et **985** ont été seulement obtenus des fruits [295, 296].

Il faut noter que les anthocyanes sont des composés très colorés, qui ont été isolés à partir des fruits seulement. Les espèces pour lesquelles la présence d'anthocyanes a été démontrée sont *C. alba* [274], *C. canadensis* [275], *C. controversa* [282], *C. mas* [282, 288, 289], *C. officinalis* [282] et *C. suecica* [302]. Quant aux tannins, ils se retrouvent dans toutes les parties de la plante. Les espèces pour lesquelles la présence de tannins a été démontrée sont *C. capitata* [279, 280], *C. controversa* [281], *C. kousa* [283], *C. mas* [291] et *C. officinalis* [292-296, 299].

2.2.2 Iridoïdes

Les iridoïdes constituent un groupe de molécule de la famille des monoterpènes [303]. La caractéristique principale de ces composés est la présence d'un noyau de type cyclopenta[c]pyrane. Il est intéressant de savoir que la très grosse majorité des iridoïdes sont glycosylés, généralement par une unité glucose. Cependant, cela ne semble pas être une règle absolue [304]. Dans le genre *Cornus*, 21 iridoïdes (**991-1011**) ont été isolés et tous sont glycosylés (figure 54). Certains montrent un

⁹ Le *Cornus canadensis* étant l'espèce étudiée dans cette thèse, elle est soulignée partout dans ce chapitre pour la mettre en évidence.

squelette réarrangé, comme par exemple le lonicéroside (**1003**) où le cycle pentanoïque est ouvert, et le swéroside (**1005**), qui possède un cycle δ -lactonique formé avec l'acide carboxylique présent sur tous les iridoïdes des *Cornus*. Pour isoler ces monoterpènes, il faut s'intéresser à toutes les parties de la plante puisqu'ils ont été repérés aussi bien dans les fruits [269] que dans les feuilles [305] ou les racines [280]. Les espèces réputées contenir des iridoïdes sont *C. canadensis* [305], *C. capitata* [277, 279, 280], *C. florida* [305], *C. kousa* [277], *C. mas* [269], *C. nuttallii* [305], *C. officinalis* [299-301, 306-308] et *C. suecica* [309] (tableau 19). Le seul iridoïde unique aux *Cornus* est le cornuside (**1004**), isolé à partir des fruits de *C. mas* [269] ou *C. officinalis* [296].

2.2.3 Autres terpènes

Les *Cornus* contiennent bien évidemment des terpènes issus d'autres familles que les iridoïdes. Étant donné le peu d'étude sur les huiles essentielles de *Cornus*, les composés volatils n'ont pas été recensés dans cette recherche bibliographique. Notons toutefois les analyses par chromatographie gazeuse (GC-MS) des fleurs de *C. florida* [310] et des fruits de *C. mas* [311]. La littérature présente l'isolement d'un seul sesquiterpène, le 7-hydroxycadalène (**1012**), d'aucun diterpène, et de 24 triterpènes (**1013-1036**) (figure 55-56). Pour espérer isoler des terpènes, il faudrait probablement s'attarder aux fruits [286], aux écorces [312] ou aux jeunes pousses [313]. Les espèces qui ont été étudiées pour leur contenu en terpènes sont *C. capitata* [278, 313, 314], *C. florida* [315], *C. kousa* [286], *C. officinalis* [267, 268] et *C. walteri* [312]. L'étude de cette dernière espèce a permis d'isoler une série de triterpènes (**1013-1015**, **1017-1019**, **1021**, **1024**, **1027**) de la famille des tirucallanes qui n'ont jamais été identifiés dans d'autres espèces. Les tirucallanes sont une famille de molécules, proche des lanostanes mais avec une stéréochimie inversée aux positions 13, 14, 17 et 20.

2.2.4 Stérols

Les stérols sont aussi présents dans le genre *Cornus*. Deux groupes ont été identifiés, soit les stigmastanes (**1037-1039**) et les spirostanés (**1040-1043**) (figure 57). Ceux-ci ont été identifiés dans différentes parties de *C. capitata* [278], *C. kousa* [316] et *C. florida* [317] (tableau 21).

2.2.5 Autres composés

D'autres composés isolés dans le genre *Cornus* n'ont pu être classés dans l'une des familles précédentes. Ainsi, 2 acides gras (**889**, **1044**), 2 alcanes (**1045-1046**) et 14 autres composés de

structures variées (**1047-1060**) ont été isolés (figure 58). Ces molécules ont été trouvées dans des extraits de *C. capitata* [278], *C. controversa* [318], *C. mas* [269], *C. officinalis* [297, 319], *C. stolonifera* [305] et *C. walteri* [320]. Étonnamment, malgré la simplicité de ces composés, plusieurs ont été isolés pour la première fois d'une source naturelle. C'est le cas du composé **1053**, isolé à partir des fruits de *C. officinalis* [297]. Également, les composés **1055-1057** et **1059-1060** ont été isolés à partir de l'écorce de *C. walteri* [320].

2.3. Activités biologiques

2.3.1 Activités antimicrobiennes

Les activités antimicrobiennes dans le genre *Cornus* n'ont pas été étudiées de manière poussée. La première étude a été réalisée sur une espèce de *Cornus* qui n'a pas été identifiée par les auteurs [321]. Ainsi, la poudre lyophilisée des fruits a montré une activité contre *Staphylococcus aureus* et *Proteus vulgaris* dans un test de diffusion sur disque (25 mg, 9,2 et 11,2 mm, respectivement). Cependant, cet échantillon s'est avéré inactif contre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, deux souches à Gram négatif.

Dans un autre article, les fruits de *C. officinalis*, extraits à l'éthanol, se sont avérés actifs contre *E. coli* (18 mm), *Flavobacterium sp.* (20 mm), *P. aeruginosa* (16 mm), *Salmonella typhimurium* (17 mm), *Bacillus subtilis* (13 mm), *Listeria monocytogenes* (15 mm), *S. aureus* (18 mm) et *Vibrio parahaemolyticus* (21 mm) [322]. Par contre, le même extrait s'est avéré inactif contre toutes les souches de levures testées (*Debaryomyces hansenii*, *Kloeckera apiculata*, *Pichia membranaefaciens*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans*, *Penicillium italicum*). Malheureusement, les auteurs n'ont pas donné les informations nécessaires pour calculer la concentration déposée sur les disques, ce qui rend ces résultats difficiles à comparer (10 g de fruits extraits avec 10 ml, rendement inconnu, 10 µl de solution filtrée déposée sur les disques).

La plante entière de *C. sanguinea*, extraite à l'éthanol, s'est aussi avérée active dans un test de diffusion sur disque contre un large éventail de bactéries ainsi que contre une souche de levure (concentration testée 400 µg disque⁻¹) : *Salmonella typhimurium* (10 mm), *Pseudomonas fluorescens* (8 mm), *Serratia marcescens* (16 mm), *Enterobacter cloacae* (15 mm), *Enterobacter aerogenes* (18 mm), *S. aureus* (12 mm), *S. aureus* résistant à la methicillin (13 mm), *Micrococcus luteus* (18 mm), *B. cereus* (14 mm), *B. subtilis* (18 mm), *Proteus vulgaris* (22 mm), *S. epidermidis* (22 mm),

Enterococcus faecalis (12 mm), *Candida albicans* (16 mm) [323]. Le nombre de souches testées a été élargi dans une deuxième étude : *Klebsiella pneumoniae* (12 mm), *Stenotrophomonas maltophilia* (14 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (16 mm), *Streptococcus pyogenes* (18 mm), *Streptococcus pneumoniae* (14 mm) et *Corynebacterium sp.* (12 mm) [324]. Il faut mentionner que l'extrait s'est avéré inactif contre *E. coli*.

Un extrait hydroalcoolique de feuilles de *C. macrophylla* a été partitionné entre l'acétate d'éthyle (EtOAc), le *n*-hexane, le *n*-butanol (*n*-BuOH) et l'eau [287]. Parmi celles-ci, c'est la fraction EtOAc qui s'est avérée active contre *P. aeruginosa*. Un fractionnement guidé par les bioessais a donc été effectué et a permis l'isolement de deux composés, soit l'afzéline (**41**) et la quercitrine (**53**). Le test antibactérien a permis de démontrer une faible activité seulement pour l'afzéline (CMI = 31 µg ml⁻¹).

2.3.2 Activités antioxydantes

La capacité antioxydante de différents extraits de *Cornus* a été évaluée à travers plusieurs études. Le test le plus utilisé parmi celles-ci est celui du DPPH [325] où les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous. L'extrait le plus actif a été réalisé avec des écorces de *C. stolonifera* [326]. Pour ce qui est des composés purs, l'acide ellagique (**956**) ainsi que les tannins **967** et **970** ont montré une activité antioxydante significative [280]. Étonnamment, l'acide ellagique (**956**) utilisé pour l'évaluation de la bioactivité n'a pas été isolée à partir des racines de *C. capitata*, qui faisait l'objet de cette étude. C'est plutôt un échantillon issue du commerce qui a été utilisé, et ce, même si elle a déjà été isolée à partir d'autres extraits [290, 291].

Tableau 8 : Activité antioxydante évaluée via le test de DPPH

Échantillon	Inhibition de l'oxydation (%)	Concentration	Réf.
MeOH, écorce, <i>C. stolonifera</i>	50	$6 \pm 1 \mu\text{g ml}^{-1}$	[326]
MeOH, fleur, <i>C. mas</i>	50	$10 \pm 1 \mu\text{g ml}^{-1}$	[291]
MeOH, fleur, <i>C. mas</i>	50	$7,5 \pm 0,6 \mu\text{g ml}^{-1}$	[291]
H ₂ O, fruit, <i>C. officinalis</i>	21,3	$100 \mu\text{g ml}^{-1}$	[300]
acide caféique (259)	21,0	$100 \mu\text{g ml}^{-1}$	[300]
acide ellagique (956)	82,6	50 μM	[280]
sténophylline H1 (960)	0,9	50 μM	[280]
tannin 961	1,1	50 μM	[280]
tannin 967	100	50 μM	[280]
tannin 970	100	50 μM	[280]
dihydrocornine (993)	1,5	50 μM	[280]
cornine (994)	1,4	50 μM	[280]
loganine (997)	16,6	$100 \mu\text{g ml}^{-1}$	[300]
cornuside (1004)	12	$100 \mu\text{g ml}^{-1}$	[300]
swéroside (1005)	13,2	$100 \mu\text{g ml}^{-1}$	[300]
acétate de morroniside (1010)	1,1	$100 \mu\text{g ml}^{-1}$	[300]

D'autres tests d'activité antioxydante ont été effectués. Ainsi, deux extraits méthanoliques de *C. mas* (fleurs et feuilles) ont été en mesure de protéger les phospholipides contre la dégradation ($\text{IC}_{50} = 133,2$ et $63,6 \mu\text{g ml}^{-1}$, respectivement) [291]. Dans un test similaire, les tannins **956**, **961**, **967** et **970** se sont aussi avérés efficaces (82,1, 74,8, 61,9 et 85,3 % à 50 μM , respectivement) [280]. Les anthocyanes **936**, **941** et **947** ont montré une activité antioxydante dans un test d'oxydation des phospholipides avec une inhibition de 40,3, 60,1 et 70,2 %, respectivement (testés à 40 μM) [282]. Finalement, le laricirésinol (**120**), s'est avéré efficace pour protéger l'oxydation du LDL ($\text{IC}_{50} = 11,9 \mu\text{M}$), un processus soupçonné d'être à l'origine des lésions athérosclérotiques [286].

Un processus d'oxydation est impliqué dans la synthèse de la mélanine, une molécule formée par les mélanocytes de la peau pour protéger les tissus des UVB [327]. L'activité antioxydante de composés isolés à partir de fruits de *C. officinalis* a été évaluée (voir les composés **997**, **1004**, **1005** et **1010** dans le tableau 8). Ces faibles résultats ont tout de même poussé leurs auteurs à étudier davantage cette activité [300]. Ils ont ainsi démontré que l'extrait brut de ces fruits prévenait le brunissement de la peau des cochons d'Inde associé à une exposition aux UVB. De plus, il a été montré que c'est bien la mélanogénèse des cellules B16 qui est inhibée par les composés présents dans les fruits et non une éventuelle toxicité, qui aurait pu avoir un effet similaire sur le brunissement.

2.3.3 Activités anticancéreuses

La cytotoxicité, souvent corrélée avec l'activité antitumorale, a été évaluée pour une série d'échantillons issus de différentes espèces de *Cornus* (tableau 9). Les composés les plus actifs, le déoxyflindissone (**1026**) et la cornusaltérine L (**1027**), ont pu freiner la prolifération des cellules A549, SK-OV-3, SK-MEL-2 et XF498, des lignées représentatives des cancers du poumon, des ovaires, de la peau et du cerveau, respectivement ($IC_{50} = 3,6-6,1 \mu M$).

Tableau 9 : Cytotoxicité d'échantillons préparés à partir de différentes espèces de *Cornus*

Échantillon	Lignée cellulaire ^a	L1 ^b	L2 ^b	L3 ^b	L4 ^b	Réf,
Fleurs, <i>C. mas</i>	HeLa, LS174	64,1	> 100			[291]
Feuilles, <i>C. mas</i>	HeLa, LS174	60,5	> 100			[291]
Fruits, <i>C. officinalis</i>	A549	81,3				[328]
rutine (48)	HeLa, LS174	> 100	> 100			[291]
laricirésinol (120)	HCT-116, HepG2	> 100	> 100			[284]
(+)-pinorésinol (152)	HCT-116, HepG2	> 100	> 100			[284]
acide gallique (224)	HeLa, LS174	56,4	> 100			[291]
acide ursolique (735)	HeLa, LS174, A549	14,5	36,3	> 100		[291] [328]
lignane 951	HCT-116, HepG2	80,7	> 100			[284]
lignane 952	HCT-116, HepG2	80,7	> 100			[284]
lignane 953	HCT-116, HepG2	99,6	> 100			[284]
cornuskoside A (954)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-5, MCF7	> 100	> 100	> 100	> 100	[285]
(-)-balanophonine (955)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-5, MCF7	27,9	33,6	30,9	28,8	[285]
(-)-balanophonine (955)	HCT-116, HepG2	53,6	> 100			[284]
acide ellagique (956)	HeLa, LS174	> 100	> 100			[291]
cornusaltérine C (1013)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	23,6	16,5	11,9	17,6	[312]
cornusaltérine B (1014)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	28,8	19,2	18,0	28,7	[312]
cornusaltérine A (1015)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	22,2	12,5	12,1	17,4	[312]
(-)-leucophyllone (1016)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	24,9	18,0	21,2	18,2	[312]
cornusaltérine J (1017)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	25,4	17,8	12,3	18,2	[312]
cornusaltérine G (1018)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	29,9	26,9	18,0	20,5	[312]

Échantillon	Lignée cellulaire ^a	L1 ^b	L2 ^b	L3 ^b	L4 ^b	Réf,
cornusaltérine H (1019)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	28,5	21,5	17,7	18,6	[312]
cornusaltérine D (1020)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	26,9	14,5	12,7	17,8	[312]
cornusaltérine I (1021)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	17,6	13,5	10,4	12,3	[312]
cornusaltérine E (1022)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	18,4	14,1	12,5	13,1	[312]
cornusaltérine F (1023)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	27,0	27,3	21,4	24,6	[312]
cornusaltérine K (1024)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	11,7	12,8	12,4	12,0	[312]
déoxyflindissone (1026)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	4,0	3,6	6,1	5,1	[312]
cornusaltérine L (1027)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498	4,3	3,8	4,7	5,8	[312]
halléridone (1051)	HeLa, P-388	18,2	13,6			[318]
(R)-4-méthyl-tétrahydro-2H-pyran-2-one (1055)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, HCT-15	>30	>30	23,4	>30	[320]
waltérolactone C (1056)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, HCT-15	27,2	>30	28,4	>30	[320]
waltérolactone D (1057)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, HCT-15	27,9	>30	22,7	>30	[320]
4-méthyl-5,6-dihydro-pyran-2-one (1058)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, HCT-15	28,5	5,8	4,8	28,1	[320]
waltérolactone A (1059)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, HCT-15	> 30	>30	23,9	>30	[320]
waltérolactone B (1060)	A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, HCT-15	> 30	>30	21,1	>30	[320]

^a A549 : carcinome pulmonaire humain, HeLa : adénocarcinome utérin humain, SK-OV-3 : adénocarcinome ovarien humain, HCT-15, HCT116, LS174 : adénocarcinome colorectal humain, HepG2 : carcinome hépatique humain, MCF7 : adénocarcinome mammaire humain, SK-MEL-2, SK-MEL-5 : mélanome humain, XF498 : glioblastome humain, P-388 : lymphome murin ; ^b IC₅₀ en $\mu\text{g ml}^{-1}$ pour les extraits et en μM pour les composés purs. Les lignées cellulaires sont spécifiées dans l'ordre, à la colonne précédente.

L'activité de l'acide ursolique (**735**), déjà mentionnée dans le tableau précédent, a fait l'objet d'une étude approfondie [268]. Cette substance, présente dans les fruits de *C. officinalis*, s'est avérée active sur la lignée cellulaire RC58T/h/SA#4 (cancer de la prostate). L'étude du mécanisme d'action a permis de démontrer que la cytotoxicité s'exprime par apoptose, soit la mort cellulaire programmée. Ainsi, les caspases -3, -8 et -9 ont été activées par l'acide ursolique (**735**), tout comme la protéine Bax. Également, l'acide ursolique (**735**) a augmenté l'expression du facteur apoptotique indépendant des caspases (AIF). Dans une autre étude [286], c'est l'aldéhyde ursolique (**1028**) qui s'est montré

capable d'inhiber l'activité d'une enzyme impliquée dans la formation de métastase (PRL-3, $IC_{50} = 50 \mu M$).

L'étude qui rapporte l'activité des fruits de *C. officinalis* est très détaillée [328]. Les auteurs ont d'abord mis en lumière la cytotoxicité de l'extrait brut, telle que rapportée dans le tableau 9. Un fractionnement par chromatographie sur colonne a ensuite permis de concentrer l'activité ($IC_{50} = 60,8 \mu g ml^{-1}$). L'étude du mécanisme d'action de cette fraction a finalement été réalisée. Il a ainsi été démontré que la fraction active provoque la mort cellulaire par apoptose en régulant à la hausse la protéine p53. Finalement les auteurs mentionnent que la fraction n'a pas démontré de toxicité sur des cellules saines (NIH3T3). Cela est rassurant puisque les fruits du *C. officinalis* sont consommés en grande quantité.

Dans plusieurs cas de cancer, la radiothérapie est utilisée. Plusieurs variantes existent, mais dans la plupart des cas, la radiothérapie consiste à irradier un tissu avec un rayonnement gamma (γ). Dans une étude, un extrait hydroalcoolique de feuilles de *C. mas* s'est avéré très intéressant dans ces situations [290]. En effet, lorsque des cellules sanguines ont été traitées avec l'extrait, la formation de micronoyaux, induite par le rayonnement, a été réduite. Également, une augmentation de l'apoptose a été observée, ce qui est considéré comme préférable à la survie de cellules aberrantes qui pourraient conduire au développement d'autres cancers. Ces résultats permettent de croire que le *C. mas* pourrait aider la rémission suite à un traitement de radiothérapie.

2.3.4 Activités antivirales

L'activité antivirale peut être mesurée de différentes manières : soit en mesurant l'inhibition de la réplication du virus ou soit en mesurant l'inhibition de l'activité d'un enzyme spécifique au virus. C'est avec cette deuxième méthode que Min *et al.* ont mis en lumière l'activité anti-VIH d'un extrait méthanolique de la partie aérienne de *C. walteri* [329]. En effet, cet extrait a partiellement inhibé l'activité de la protéase recombinante du VIH (39 % à $100 \mu g ml^{-1}$).

Ce résultat est à prendre avec précaution. En effet, dans une deuxième étude, l'équipe de Min a approfondi l'activité anti-VIH d'un extrait de *C. kousa* [330]. Ainsi, l'extrait méthanolique a inhibé l'activité de la transcriptase inverse (99 % à $100 \mu g ml^{-1}$, $IC_{50} = 6,3 \mu g ml^{-1}$) mais s'est avéré pratiquement inactif vis-à-vis la protéase (9 % à $100 \mu g ml^{-1}$). Également, l'extrait de *C. kousa* s'est montré inactif contre la réplication du VIH sur des cellules MT-4.

La protéase à sérine NS3 du virus de l'hépatite C (HCV PR) est une cible de choix pour la découverte d'agents thérapeutiques efficaces contre cette maladie. Les tannins **967**, **970**, **976**, **977** et l'iridoïde **1009** ont été testés pour leur capacité à inhiber cette enzyme [299]. Bien que l'iridoïde **1009** s'est avéré inactif ($IC_{50} > 100 \mu\text{g ml}^{-1}$), les tannins ont montré des activités très intéressantes ($IC_{50} = 4,8\text{-}7,0 \mu\text{g ml}^{-1}$).

2.3.5 Autres activités

L'écorce séchée de *C. florida*, lorsqu'extrait au méthanol, tue les escargots (*Biomphalaria glabratus*) en 24 h à une concentration de 100 ppm [317]. Ces escargots ont été choisis dans l'étude parce qu'ils sont connus comme étant un réservoir naturel du trématode *Schistosoma mansoni*, un parasite qui infecte plus de 200 millions de personnes dans le monde, principalement dans les régions tropicales [331]. Un fractionnement guidé par les bioessais a permis d'identifier deux spirostanes (**1042** et **1043**) fortement actifs : une dose de 6 et 12 ppm étaient suffisantes pour éliminer les escargots en 24 h.

L'acide arjunolique (**1035**), un triterpène de la famille des oléananes, a été identifié à partir des tiges de *C. capitata* [278]. Dans une étude publiée en 2002, il a été démontré que cette molécule présentait une activité anti-appétente marquée [313]. En effet, lorsque la nourriture donnée aux larves de *Spilarctia obliqua* était additionnée d'acide arjunolique, ces derniers s'alimentaient moins et donc, leur croissance était inhibée ($ED_{50} = 667 \text{ ppm}$).

Un extrait méthanolique de fruits de *C. officinalis* a montré une forte activité insecticide contre les drosophiles (*Drosophila melanogaster*) [319]. En effectuant un fractionnement guidé par les bioessais, Miyazawa *et al.* ont pu isoler deux composés, soit le diméthylmalate (**1049**) et le 5-hydroxyméthylfurfural (**1054**). Pour arriver à repérer ces composés, deux traitements ont été testés : soit les larves de *D. melanogaster* étaient nourries avec une diète additionnée des composés à tester, soit les adultes étaient mis en contact avec les composés (application topique). Dans les deux cas, les composés ont montré une activité très intéressante (diète : 6,15 et 11,8 $\mu\text{mol ml}^{-1}$; topique : 21,5 et 34,0 $\mu\text{g adulte}^{-1}$, respectivement). Il faut noter que le diméthylmalate (**1049**) a été isolé en très grande quantité (3,94 g à partir de 4,5 kg de fruits).

Les fruits de *C. mas* sont connus pour contenir des anthocyanes (**936**, **941** et **947**) ainsi que de l'acide ursolique (**735**) (voir tableaux 18 et 20). Dans une étude sur le diabète, il a été démontré que

ces substances prévenaient l'obésité ainsi que l'intolérance au glucose [289]. En effet, lorsque des souris étaient nourries avec une diète enrichie en gras, une prise de poids d'environ 106 % était observée, et ce, même si les souris consommaient moins de nourriture que le groupe témoin, nourri avec une diète normale (prise de poids de 79 %). En ajoutant les anthocyanes isolés des fruits de *C. mas*, la prise de poids n'était plus que de 87 %, et ce, pour une consommation de nourriture équivalente ($\sim 2,3$ g jour⁻¹). D'autres expériences ont été réalisées pour montrer que l'augmentation du taux de glucose dans le sang, l'accumulation de gras dans le foie ainsi que la diminution de l'insuline, des phénomènes observés lors d'une diète riche en graisses, ont tous été fortement réduits grâce aux anthocyanes et à l'acide ursolique.

Le loganine (**997**), un iridoïde isolé à partir des fruits de *C. officinalis*, s'est avéré actif dans une étude portant sur l'activité anti-amnésique [308]. Pour arriver à ce résultat, des souris ont été entraînées dans différents dispositifs pour évaluer leur capacité mémorielle (test d'évitement passif, labyrinthe de Morris). Par la suite, des souris se sont vu injecter de la scopolamine afin d'induire des pertes de mémoire. Également, certaines souris ont été traitées avec des extraits de *C. officinalis* ou du loganine (**997**). Les résultats obtenus avec une dose de 2 mg kg⁻¹ de loganine (**997**) étaient comparables à ceux obtenus pour le Donepezil, un traitement utilisé contre la maladie d'Alzheimer.

Cette dernière maladie implique la dégénérescence des neurones via un mécanisme apoptotique. Sans être complètement élucidé, ce mécanisme impliquerait une neurotoxicité exercée par le β -amyloïde. Dans une étude sur les fruits de *C. officinalis*, il a été démontré que l'acide ursolique (**735**), l'acide coumarique (**255**) et l'acide gallique (**224**) protègent les cellules PC12 de l'apoptose provoquée par une exposition au β -amyloïde [267].

Comme mentionné précédemment (voir tableau 19), des iridoïdes ont été identifiés dans les fruits de *C. mas* [269]. Dans cette étude, les auteurs ont voulu s'assurer de l'innocuité des fruits puisque ceux-ci sont consommés et ils présentent des qualités diététiques intéressantes. Pour ce faire, la génotoxicité de l'acide loganique (**996**), du loganine (**997**), du cornuside (**1004**) et du sweroside (**1005**) a été évaluée à l'aide du test de dommage de l'ADN sur une bactérie modifiée (PQ37) [332]. Heureusement, ces substances ne sont pas génotoxiques.

ANNEXE A : STRUCTURE DES BANQUES DE DONNÉES

Les banques de données sont constituées de plusieurs tables (figure 5). Celles-ci sont définies de cette manière :

- Table "famille" : contient les familles de molécule répertoriées dans le genre sapin. Ces familles seront traitées dans les sections subséquentes, soit les composés phénoliques, les monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes, les triterpènes, les tétraterpènes, les stérols et les alcanes ;
- Table "sous-famille" : contient les sous-familles pour chaque grande famille de la table précédente. Par exemple, les composés phénoliques sont divisés en chalcones, en flavonoïdes, en lignanes, en stilbènes ou autres ;
- Table "molecule" : contient le nom, des synonymes, le numéro CAS, la structure en format ChemSketch [333], le code InChi, ainsi que la famille de produit naturel à laquelle appartient la molécule ;
- Table "articles" : contient la référence à partir de laquelle les données sont extraites. Le numéro endnote est lié avec une banque d'articles tenue par le logiciel EndNote [334]. Le champ CitedIn3079 indique si cet article a été recensé dans la revue de littérature de Yang [50] ;
- Table "espece" : Contient les différentes espèces étudiées (ex. *alba*, *balsamea*, *sibirica*, etc.) ainsi que l'abréviation qui sera utilisée dans les tableaux à la suite ;
- Table "partie" : Contient les différentes parties de sapin étudiées (ex. feuilles, bois, écorce, racine, oléorésine, etc.) ;
- Table "typeextrait" : Contient le type d'extrait effectué par l'étude (hydrodistillation, extraction EtOH aq, etc.) ;
- Table "principale" : Permet d'articuler toutes les tables précédentes. Chaque entrée dans cette table indique l'isolement d'une molécule (table "molecule") dans une espèce de sapin (table "espece"), extraite sur une partie de la plante (table "partie") selon une technique précise (table "typeextrait") et que cette information est tirée d'un article donné (table "articles").

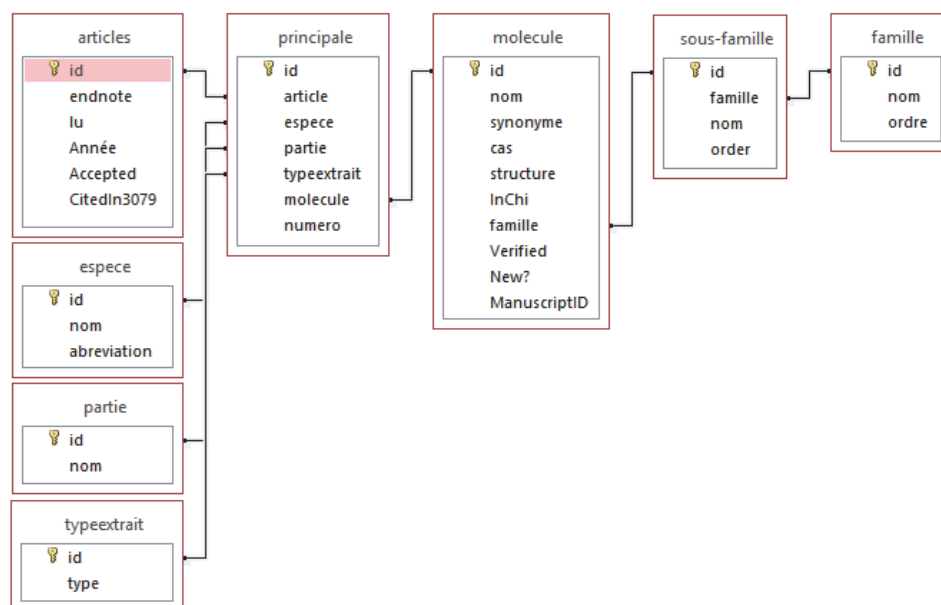
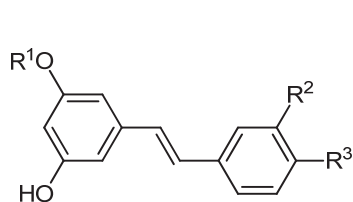
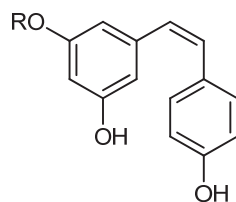
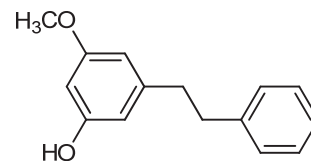
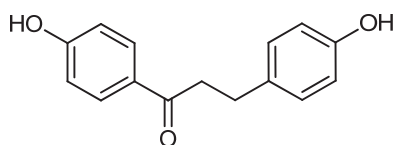
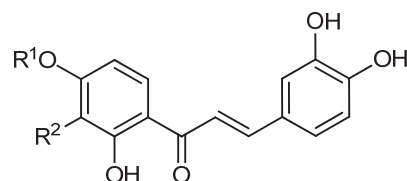


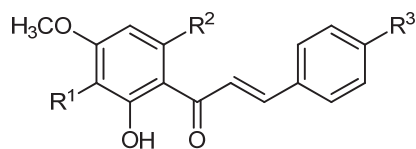
Figure 5 : Structure des banques de données de phytochimie

ANNEXE B : STRUCTURE DES MOLÉCULES IDENTIFIÉES DANS LE GENRE *ABIES*

- 1** $R^1 = R^2 = H, R^3 = OH$
2 $R^1 = H, R^2 = R^3 = OH$
3 $R^1 = \beta\text{-D-Glcp}, R^2 = H, R^3 = OH$
4 $R^1 = \beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^3 = OH$
5 $R^1 = CH_3, R^2 = R^3 = H$

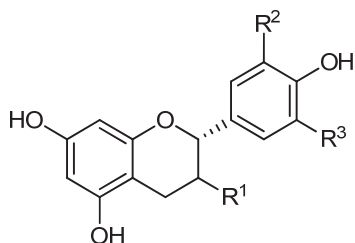
**6** $R = \beta\text{-D-Glcp}$ **7****8**

- 12** $R^1 = H, R^2 = OH$
13 $R^1 = \beta\text{-D-Glcp}, R^2 = H$
14 $R^1 = \beta\text{-D-Glcp}, R^2 = OH$
15 $R^1 = \alpha\text{-L-Araf-(1}\rightarrow\text{4)-}\beta\text{-D-Glcp}, R^2 = OH$

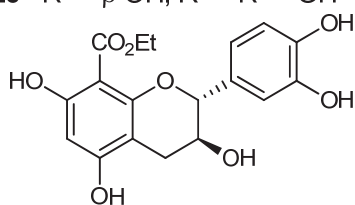


- 9** $R^1 = H, R^2 = OH, R^3 = OCH_3$
10 $R^1 = H, R^2 = OCH_3, R^3 = OH$
11 $R^1 = CH_3, R^2 = OCH_3, R^3 = OH$

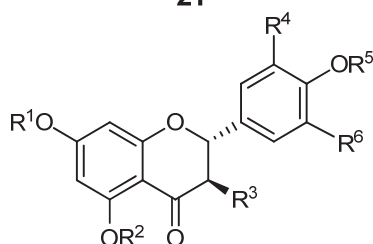
Figure 6 : Composés phénoliques : stilbènes et chalcones



- 16** $R^1 = \alpha\text{-OH}, R^2 = R^3 = \text{H}$
17 $R^1 = \beta\text{-OH}, R^2 = R^3 = \text{H}$
18 $R^1 = \alpha\text{-OH}, R^2 = \text{OH}, R^3 = \text{H}$
19 $R^1 = \beta\text{-OH}, R^2 = \text{OH}, R^3 = \text{H}$
20 $R^1 = \beta\text{-OH}, R^2 = R^3 = \text{OH}$

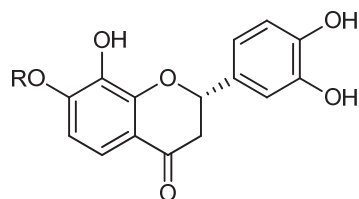


21

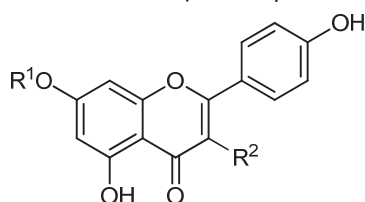


- 22** $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}$
23 $R^1 = R^3 = R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}, R^2 = \beta\text{-D-Glcp}$
24 $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^6 = \text{H}, R^5 = \beta\text{-D-Glcp}$
25 $R^1 = R^2 = R^3 = R^5 = R^6 = \text{H}, R^4 = \text{OH}$
26 $R^1 = R^2 = R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}, R^3 = \text{OH}$
27 $R^1 = R^2 = R^5 = R^6 = \text{H}, R^3 = R^4 = \text{OH}$
28 $R^1 = R^2 = R^5 = R^6 = \text{H}, R^3 = \text{O-}\beta\text{-D-Galp}, R^4 = \text{OH}$
29 $R^1 = R^2 = \text{H}, R^3 = R^4 = R^6 = \text{OH}, R^5 = \text{CH}_3$
30 $R^1 = R^3 = R^4 = R^6 = \text{H}, R^2 = R^5 = \text{CH}_3$
31 $R^1 = \beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}$
32 $R^1 = \alpha\text{-L-Rhap-(1}\rightarrow\text{2)-}\beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}$
33 $R^1 = \beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}, R^3 = \beta\text{-OH}$
34 $R^1 = \beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}, R^3 = \alpha\text{-OH}$
35 $R^1 = R^2 = \text{CH}_3, R^3 = R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}$
36 $R^1 = \alpha\text{-L-Rhap-(1}\rightarrow\text{6)-}\beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^3 = R^6 = \text{H}, R^4 = \text{OCH}_3, R^5 = \text{CH}_3$

Figure 7 : Composés phénoliques : flavonoïdes



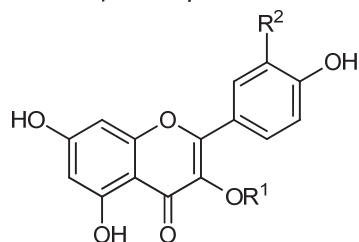
37 R = β -D-Glcp



38 R¹ = R² = H

39 R¹ = α -L-Rhap-(1 \rightarrow 6)- β -D-Glcp, R² = H

40 R¹ = R² = β -D-Glcp



41 R¹ = R² = H

42 R¹ = H, R² = OH

43 R¹ = β -D-Glcp, R² = H

44 R¹ = β -D-Glcp, R² = OH

45 R¹ = β -D-Glcp, R² = OCH₃

46 R¹ = 6-O-Ac- β -D-Glcp, R² = OCH₃

47 R¹ = α -L-Rhap-(1 \rightarrow 6)- β -D-Glcp, R² = H

48 R¹ = α -L-Rhap-(1 \rightarrow 6)- β -D-Glcp, R² = OH

49 R¹ = β -D-Galp, R² = H

50 R¹ = β -D-Galp, R² = OH

51 R¹ = β -D-Galp, R² = OCH₃

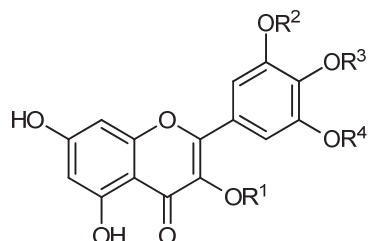
52 R¹ = α -L-Rhap, R² = H

53 R¹ = α -L-Rhap, R² = OH

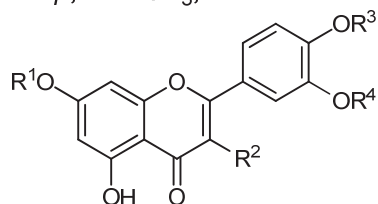
54 R¹ = α -L-Rhap, R² = OCH₃

55 R¹ = α -L-Arap, R² = H

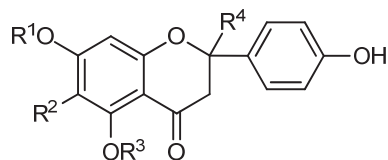
Figure 8 : Composés phénoliques : flavonoïdes (suite)



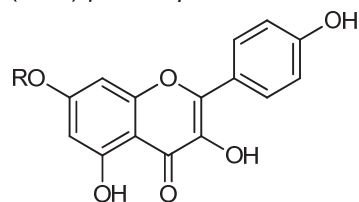
- 56** $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H$
57 $R^1 = \beta\text{-D-Galp}, R^2 = R^3 = R^4 = H$
58 $R^1 = \beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^3 = R^4 = H$
59 $R^1 = \alpha\text{-L-Rhap-(1}\rightarrow\text{6)}\text{-}\beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^3 = R^4 = H$
60 $R^1 = \beta\text{-D-Glcp}, R^2 = \text{CH}_3, R^3 = R^4 = H$
61 $R^1 = \beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^3 = H, R^4 = \text{CH}_3$
62 $R^1 = \beta\text{-D-Galp}, R^2 = R^4 = H, R^3 = \text{CH}_3$
63 $R^1 = \beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^4 = H, R^3 = \beta\text{-D-Glcp}$
64 $R^1 = 6\text{-O-Ac-}\beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^3 = H, R^4 = \text{CH}_3$
65 $R^1 = \alpha\text{-L-Rhap-(1}\rightarrow\text{6)}\text{-}\beta\text{-D-Glcp}, R^2 = \text{CH}_3, R^3 = R^4 = H$
66 $R^1 = \alpha\text{-L-Rhap-(1}\rightarrow\text{6)}\text{-}\beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^3 = H, R^4 = \text{CH}_3$
67 $R^1 = \beta\text{-D-Galp}, R^2 = \text{CH}_3, R^3 = R^4 = H$
68 $R^1 = \alpha\text{-L-Rhap}, R^2 = R^3 = R^4 = H$
69 $R^1 = \alpha\text{-L-Rhap}, R^2 = \text{CH}_3, R^3 = R^4 = H$



- 70** $R^1 = \alpha\text{-L-Rhap-(1}\rightarrow\text{6)}\text{-}\beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^4 = H, R^3 = \text{CH}_3$
71 $R^1 = R^4 = \text{CH}_3, R^2 = \text{O-}\alpha\text{-L-Rhap-(1}\rightarrow\text{6)}\text{-}\beta\text{-D-Glcp}, R^3 = H$



- 72** $R^1 = R^2 = R^3 = H, R^4 = \text{OH}$
73 $R^1 = R^2 = H, R^3 = \beta\text{-D-Glcp}, R^4 = \alpha\text{-H}$
74 $R^1 = R^2 = \text{CH}_3, R^3 = R^4 = H$
75 $R^1 = \beta\text{-D-Glcp}, R^2 = R^3 = H, R^4 = \text{OH}$



- 76** $R = \beta\text{-D-Glcp}$

Figure 9 : Composés phénoliques : flavonoïdes (suite)

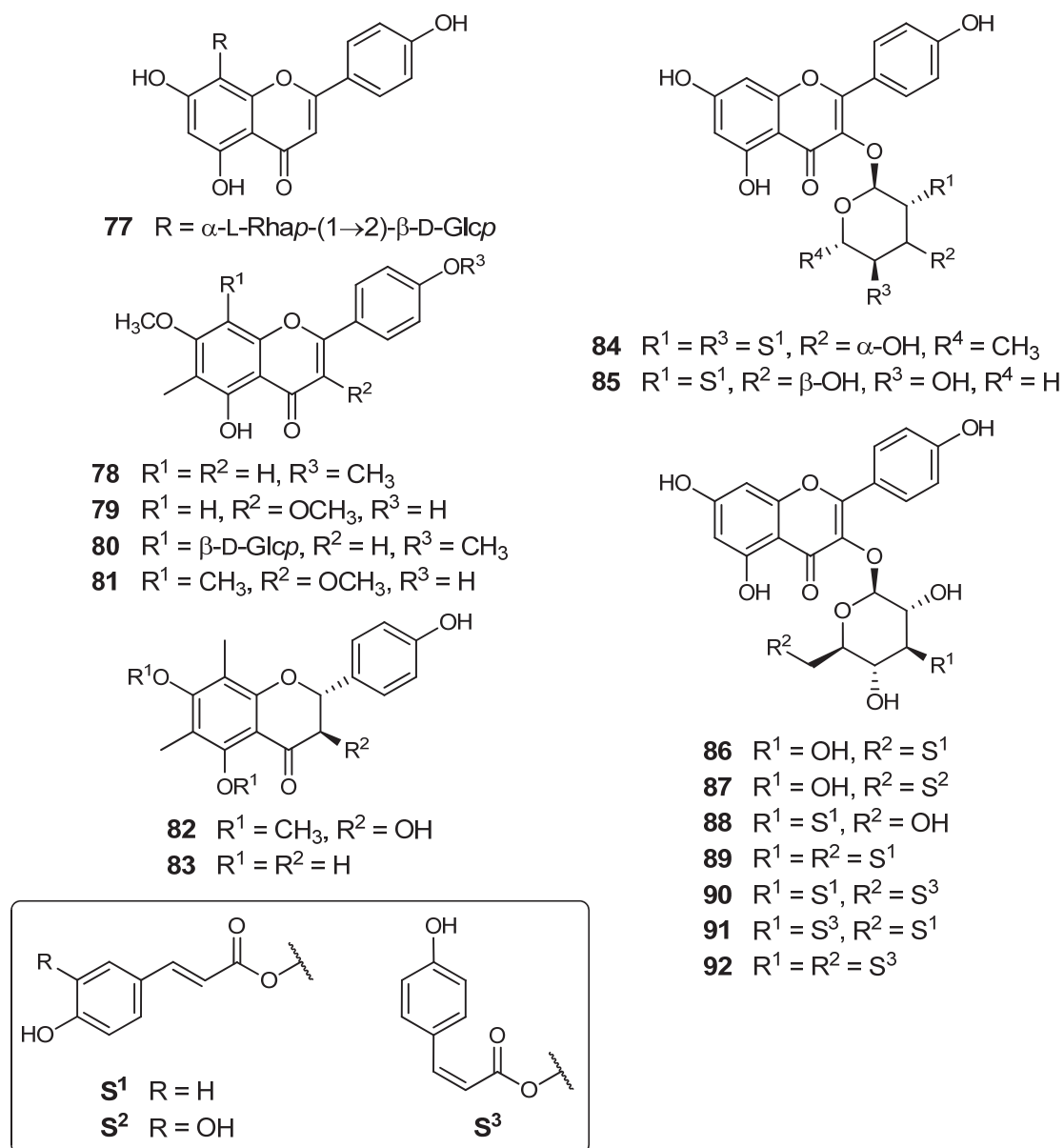
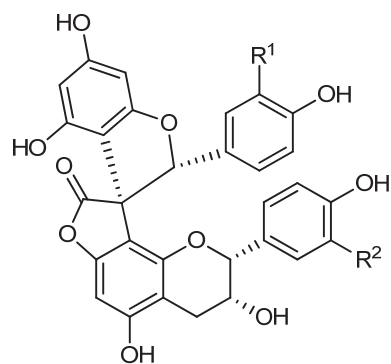


Figure 10 : Composés phénoliques : flavonoïdes (suite)

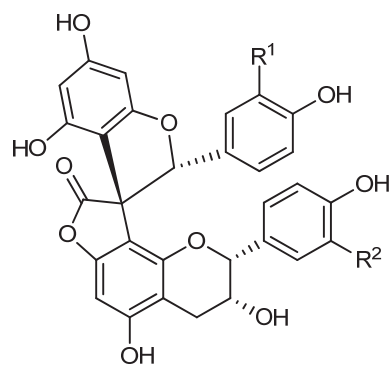


93 $R^1 = R^2 = H$

94 $R^1 = H, R^2 = OH$

95 $R^1 = OH, R^2 = H$

96 $R^1 = R^2 = OH$

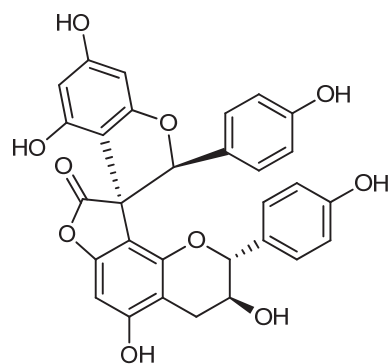


97 $R^1 = R^2 = H$

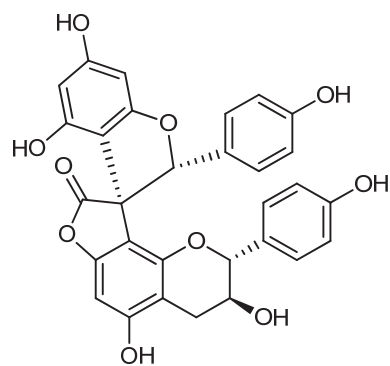
98 $R^1 = H, R^2 = OH$

99 $R^1 = OH, R^2 = H$

100 $R^1 = R^2 = OH$



101



102

Figure 11 : Composés phénoliques : biflavonoïdes (suite)

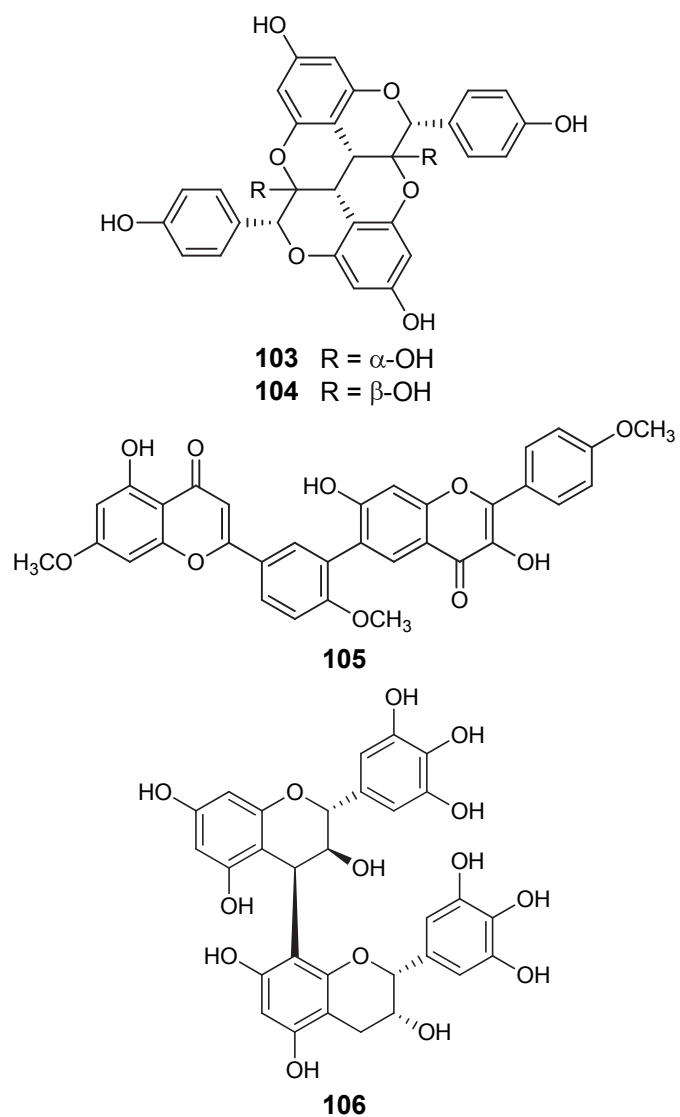


Figure 12 : Composés phénoliques : biflavonoïdes (suite)

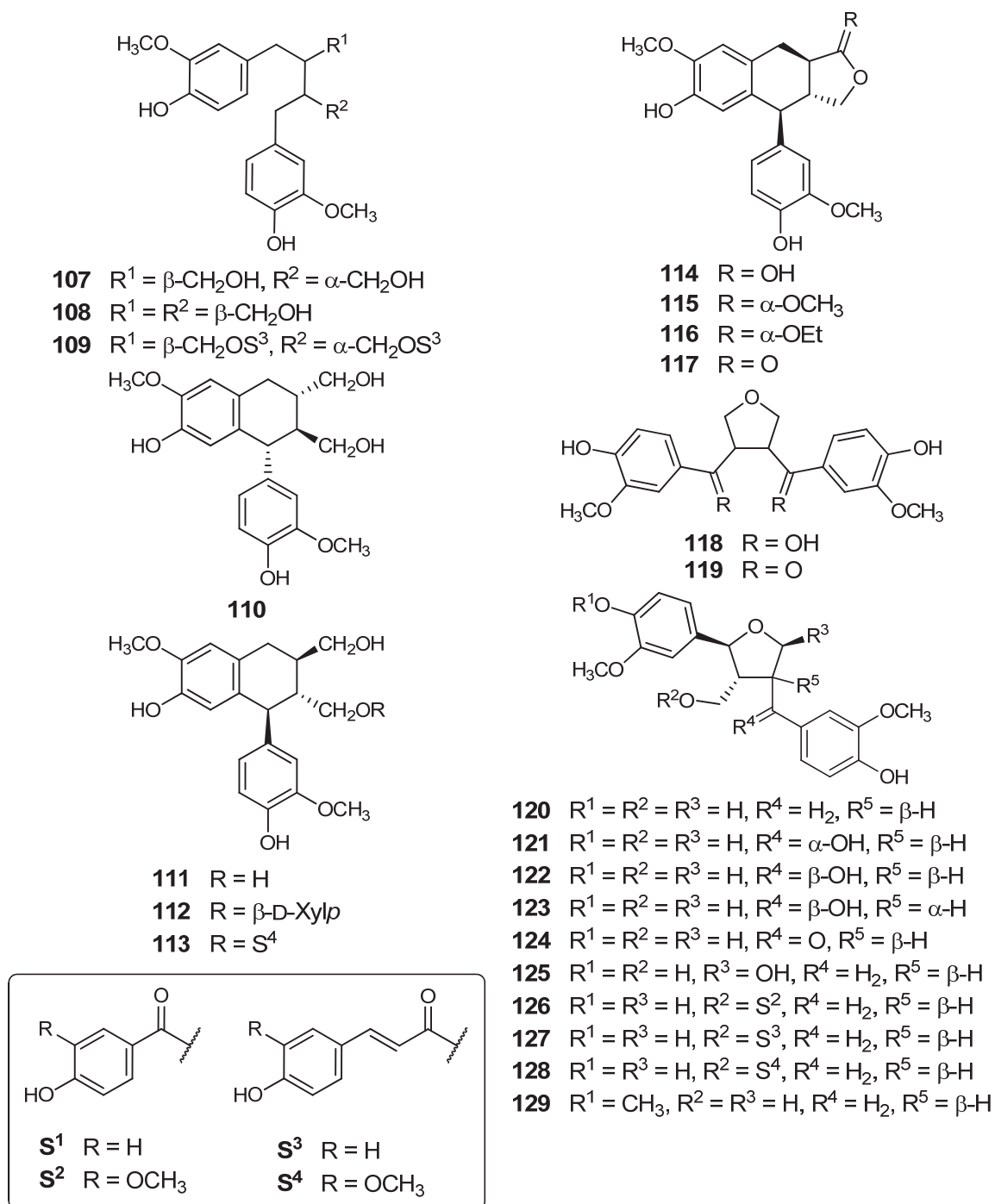
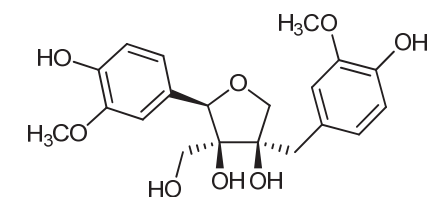
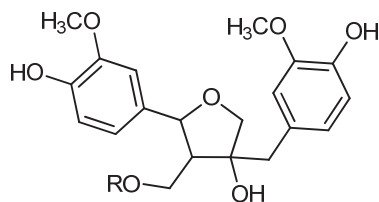
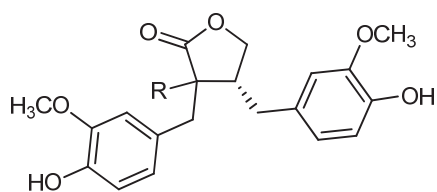
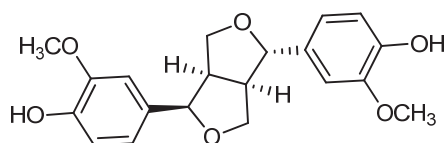
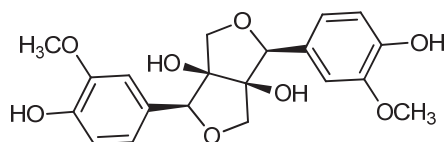
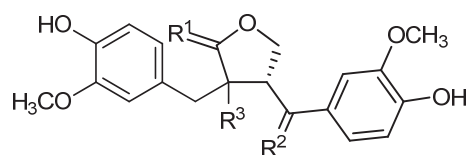
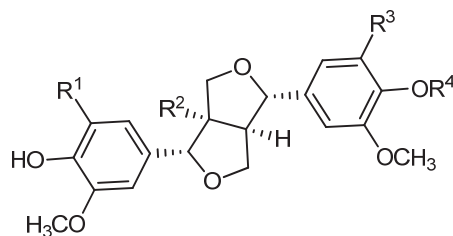
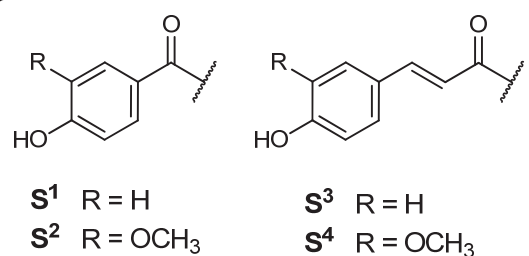
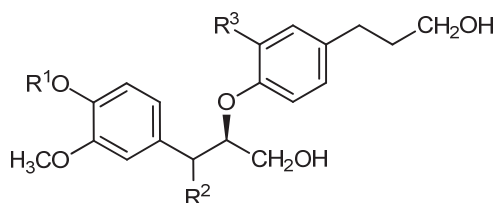
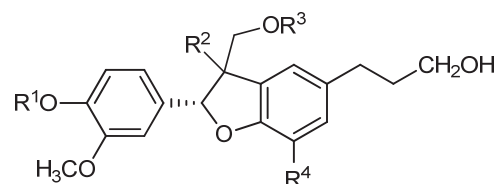
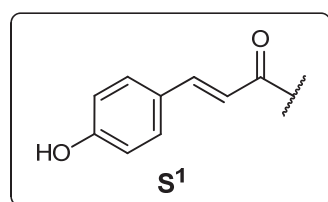
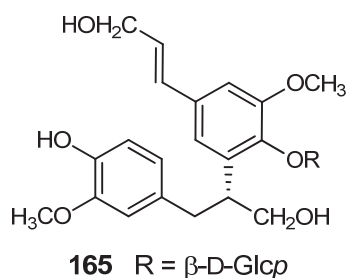
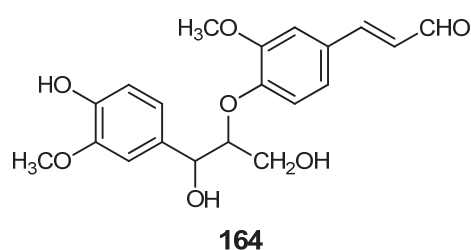


Figure 13 : Composés phénoliques : lignanes

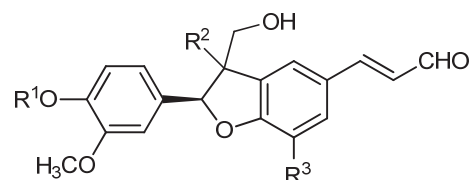
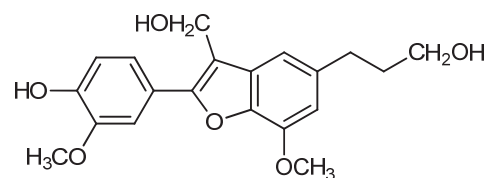
**130****131** R = S³**132** R = S⁴**133** R = α -OH**134** R = β -OH**135****136****137** R¹ = α -OH, R² = H₂, R³ = α -H**138** R¹ = α -OH, R² = β -OH, R³ = α -H**139** R¹ = α -OCH₃, R² = OH, R³ = α -H**140** R¹ = α -OCH₃, R² = α -OH, R³ = β -H**141** R¹ = α -OCH₃, R² = β -OH, R³ = α -H**142** R¹ = β -OCH₃, R² = α -OH, R³ = β -H**143** R¹ = β -OCH₃, R² = β -OH, R³ = α -H**144** R¹ = α -OCH₃, R² = β -OCH₃, R³ = α -H**145** R¹ = O, R² = H₂, R³ = α -H**146** R¹ = O, R² = OH, R³ = α -H**147** R¹ = O, R² = β -OH, R³ = α -OH**148** R¹ = O, R² = OS¹, R³ = α -H**149** R¹ = O, R² = OS², R³ = α -H**150** R¹ = O, R² = OS³, R³ = α -H**151** R¹ = R² = O, R³ = α -H**152** R¹ = R² = R³ = R⁴ = H**153** R¹ = R³ = R⁴ = H, R² = OH**154** R¹ = R² = R³ = H, R⁴ = β -D-Glcp**155** R¹ = OCH₃, R² = R³ = R⁴ = H**156** R¹ = R³ = OCH₃, R² = R⁴ = H**S¹** R = H**S²** R = OCH₃**S³** R = H**S⁴** R = OCH₃**Figure 14** : Composés phénoliques : lignanes (suite)



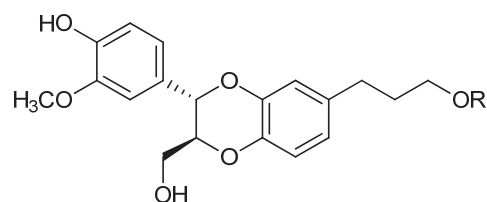
- 157** $R^1 = R^2 = H, R^3 = OH$
158 $R^1 = R^3 = H, R^2 = \beta-OH$
159 $R^1 = R^2 = H, R^3 = OCH_3$
160 $R^1 = H, R^2 = \beta-OH, R^3 = OH$
161 $R^1 = H, R^2 = \alpha-OH, R^3 = OCH_3$
162 $R^1 = \beta-D-Xylp, R^2 = H, R^3 = OCH_3$
163 $R^1 = \beta-D-Glcp, R^2 = \beta-OH, R^3 = OCH_3$



- 166** $R^1 = R^3 = H, R^2 = \alpha-H, R^4 = OH$
167 $R^1 = R^3 = H, R^2 = \alpha-H, R^4 = H$
168 $R^1 = R^3 = H, R^2 = \alpha-H, R^4 = OCH_3$
169 $R^1 = H, R^2 = \beta-H, R^3 = S^1, R^4 = OH$
170 $R^1 = \alpha-L-Rhap, R^2 = \alpha-H, R^3 = H, R^4 = OH$

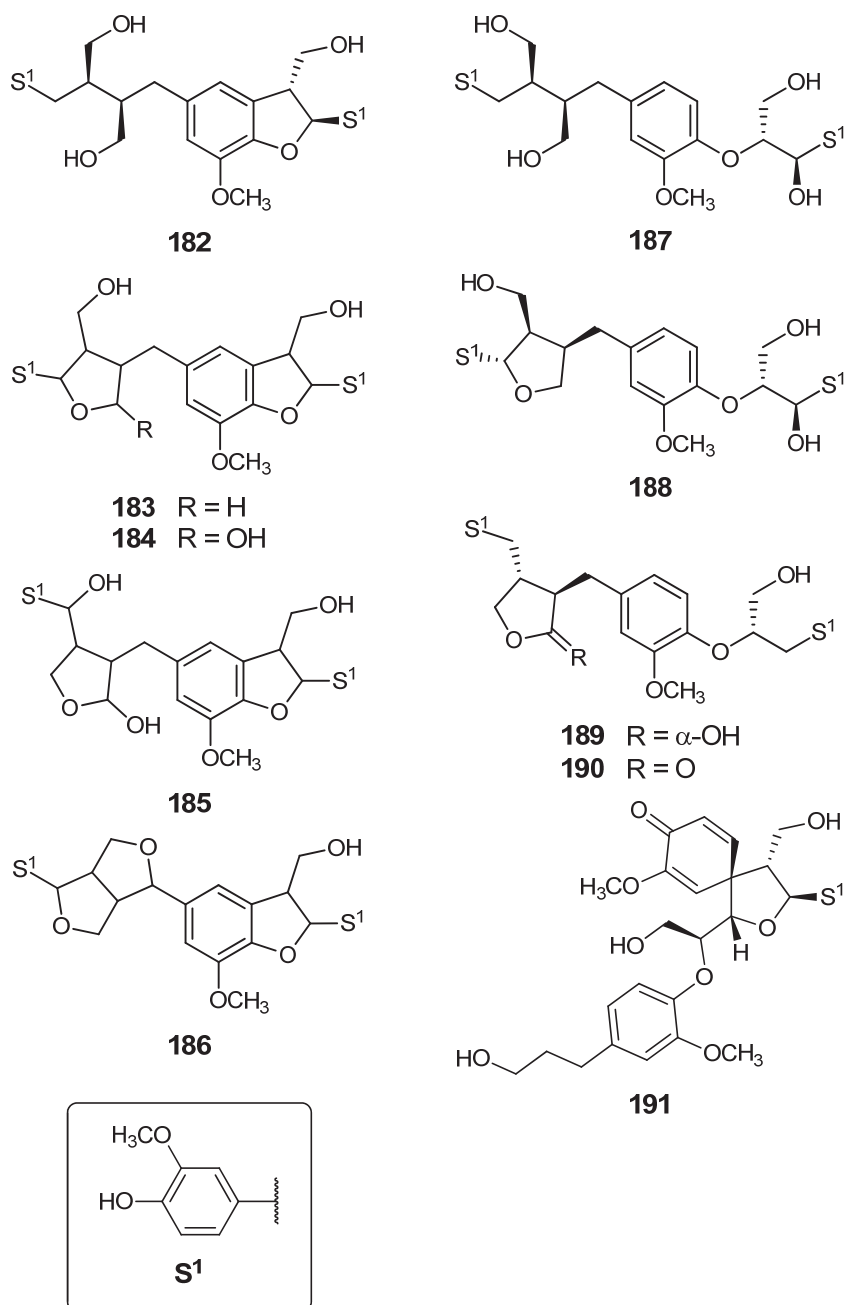


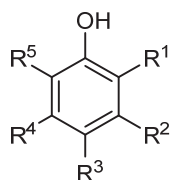
- 172** $R^1 = H, R^2 = \alpha-H, R^3 = OH$
173 $R^1 = \alpha-L-Rhap, R^2 = \beta-H, R^3 = H$
174 $R^1 = \alpha-L-Rhap, R^2 = \beta-H, R^3 = OH$
175 $R^1 = \alpha-L-Rhap, R^2 = \beta-H, R^3 = OCH_3$
176 $R^1 = 3-O-CH_3-\alpha-L-Rhap, R^2 = \beta-H, R^3 = OH$
177 $R^1 = 3-O-CH_3-\alpha-L-Rhap, R^2 = \beta-H, R^3 = OCH_3$
178 $R^1 = \beta-D-Glcp, R^2 = \beta-H, R^3 = OH$
179 $R^1 = \beta-D-Glcp, R^2 = \beta-H, R^3 = OCH_3$



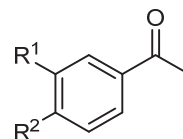
- 180** $R = H$
181 $R = \beta-D-Glcp$

Figure 15 : Composés phénoliques : lignanes (suite)

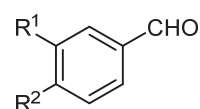
**Figure 16** : Composés phénoliques : lignanes (suite)



- 192** $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$
193 $R^1 = R^2 = R^4 = R^5 = H, R^3 = CH_3$
194 $R^1 = R^2 = R^4 = R^5 = H, R^3 = t-Bu$
195 $R^1 = R^2 = R^4 = R^5 = H, R^3 = OH$
196 $R^1 = R^3 = R^4 = R^5 = H, R^2 = CH_3$
197 $R^1 = R^3 = R^5 = H, R^2 = R^4 = CH_3$
198 $R^1 = R^5 = H, R^2 = R^3 = R^4 = CH_3$
199 $R^1 = R^3 = R^4 = R^5 = H, R^2 = OH$
200 $R^1 = R^3 = R^4 = H, R^2 = OH, R^5 = Et$
201 $R^1 = CH_3, R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$
202 $R^1 = R^5 = CH_3, R^2 = R^3 = R^4 = H$
203 $R^1 = R^4 = CH_3, R^2 = R^3 = R^5 = H$
204 $R^1 = R^3 = CH_3, R^2 = R^4 = R^5 = H$
205 $R^1 = R^3 = R^5 = CH_3, R^2 = R^4 = H$
206 $R^1 = R^2 = CH_3, R^3 = R^4 = R^5 = H$
207 $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = CH_3$
208 $R^1 = CH_3, R^2 = OH, R^3 = R^4 = R^5 = H$
209 $R^1 = R^4 = CH_3, R^2 = OH, R^3 = R^5 = H$
210 $R^1 = OH, R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$
211 $R^1 = OCH_3, R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$

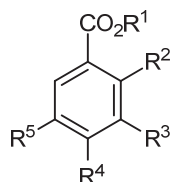


- 212** $R^1 = H, R^2 = CH_3$
213 $R^1 = H, R^2 = OH$
214 $R^1 = H, R^2 = OCH_3$
215 $R^1 = R^2 = OH$
216 $R^1 = OCH_3, R^2 = OH$

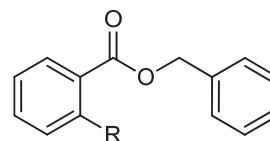


- 217** $R^1 = H, R^2 = OH$
218 $R^1 = OCH_3, R^2 = OH$
219 $R^1 = R^2 = OCH_3$

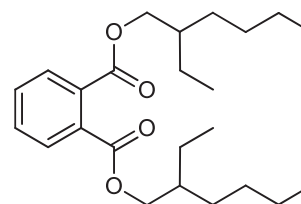
Figure 17 : Composés phénoliques : autres



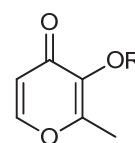
- 220** $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$
221 $R^1 = R^2 = R^3 = R^5 = H, R^4 = OH$
222 $R^1 = R^2 = R^3 = R^5 = H, R^4 = O-\beta-D-Glcp$
223 $R^1 = R^2 = R^5 = H, R^3 = R^4 = OH$
224 $R^1 = R^2 = H, R^3 = R^4 = R^5 = OH$
225 $R^1 = R^2 = R^5 = H, R^3 = OH, R^4 = O-\beta-D-Glcp$
226 $R^1 = R^2 = R^5 = H, R^3 = OCH_3, R^4 = OH$
227 $R^1 = R^2 = R^5 = H, R^3 = R^4 = OCH_3$
228 $R^1 = R^2 = R^5 = H, R^3 = OCH_3, R^4 = O-\beta-D-Glcp$
229 $R^1 = R^4 = R^5 = H, R^2 = R^3 = OH$
230 $R^1 = CH_3, R^2 = R^3 = R^5 = H, R^4 = OH$
231 $R^1 = CH_3, R^2 = R^5 = H, R^3 = R^4 = OH$
232 $R^1 = Et, R^2 = R^5 = H, R^3 = R^4 = OH$
233 $R^1 = \beta-D-Glcp, R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$
234 $R^1 = \beta-D-Glcp, R^2 = R^3 = R^5 = H, R^4 = OH$
235 $R^1 = \beta-D-Glcp, R^2 = R^5 = H, R^3 = R^4 = OH$
236 $R^1 = \beta-D-Glcp, R^2 = R^5 = H, R^3 = OCH_3, R^4 = OH$



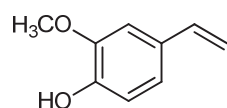
- 240** $R = H$
241 $R = OH$



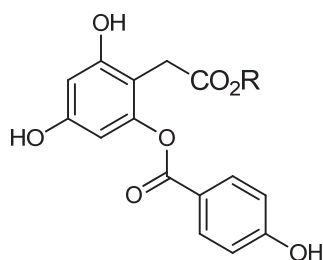
242



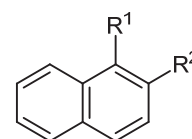
- 243** $R = H$
244 $R = \beta-D-Glcp$



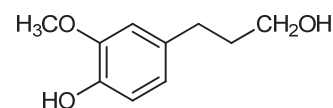
237



- 238** $R = H$
239 $R = CH_3$

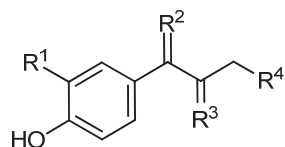


- 245** $R^1 = H, R^2 = OH$
246 $R^1 = OH, R^2 = H$

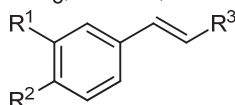


247

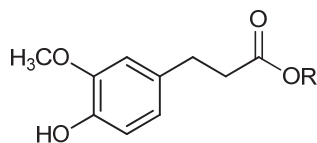
Figure 18 : Composés phénoliques : autres (suite)



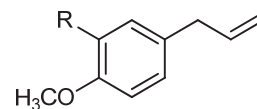
- 248** $R^1 = R^4 = H, R^2 = H_2, R^3 = O$
249 $R^1 = OCH_3, R^2 = OH, R^3 = H_2, R^4 = H$
250 $R^1 = OCH_3, R^2 = OEt, R^3 = R^4 = OH$
251 $R^1 = OCH_3, R^2 = O, R^3 = H_2, R^4 = H$
252 $R^1 = OCH_3, R^2 = O, R^3 = H_2, R^4 = OH$



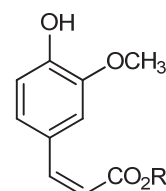
- 253** $R^1 = R^2 = H, R^3 = CO_2Et$
254 $R^1 = H, R^2 = OH, R^3 = CH_2O-\beta-D-Glcp$
255 $R^1 = H, R^2 = OH, R^3 = CO_2H$
256 $R^1 = H, R^2 = OH, R^3 = CO_2-\beta-D-Glcp$
257 $R^1 = H, R^2 = OCH_3, R^3 = CH_3$
258 $R^1 = H, R^2 = O-\beta-D-Glcp, R^3 = CO_2H$
259 $R^1 = R^2 = OH, R^3 = CO_2H$
260 $R^1 = OH, R^2 = OCH_3, R^3 = CHO$
261 $R^1 = OCH_3, R^2 = OH, R^3 = CHO$
262 $R^1 = OCH_3, R^2 = OH, R^3 = CO_2H$
263 $R^1 = OCH_3, R^2 = OH, R^3 = CO_2C_{16}H_{33}$
264 $R^1 = OCH_3, R^2 = OH, R^3 = CO_2C_{22}H_{45}$
265 $R^1 = OCH_3, R^2 = OH, R^3 = CO_2C_{23}H_{47}$
266 $R^1 = OCH_3, R^2 = OH, R^3 = CO_2C_{24}H_{49}$
267 $R^1 = OCH_3, R^2 = OH, R^3 = CO_2C_{25}H_{51}$
268 $R^1 = OCH_3, R^2 = OH, R^3 = CO_2C_{26}H_{53}$
269 $R^1 = OCH_3, R^2 = OH, R^3 = CO_2-\beta-D-Glcp$
270 $R^1 = R^2 = OCH_3, R^3 = CHO$



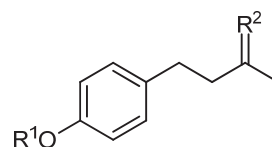
- 271** $R = C_{22}H_{45}$



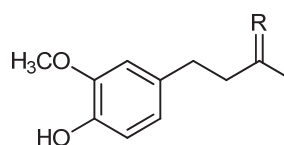
- 272** $R = H$
273 $R = OCH_3$



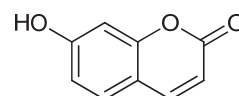
- 274** $R = C_{16}H_{33}$



- 275** $R^1 = H, R^2 = H_2$
276 $R^1 = H, R^2 = OH$
277 $R^1 = H, R^2 = \alpha-H, O-\beta-D-Glcp$
278 $R^1 = H, R^2 = \beta-H, O-\beta-D-Glcp$
279 $R^1 = H, R^2 = O$
280 $R^1 = CH_3, R^2 = O-\beta-D-Glcp$



- 281** $R = O$
282 $R = OH$



- 283**

Figure 19 : Composés phénoliques : autres (suite)

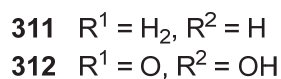
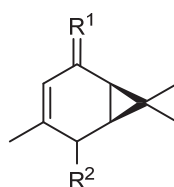
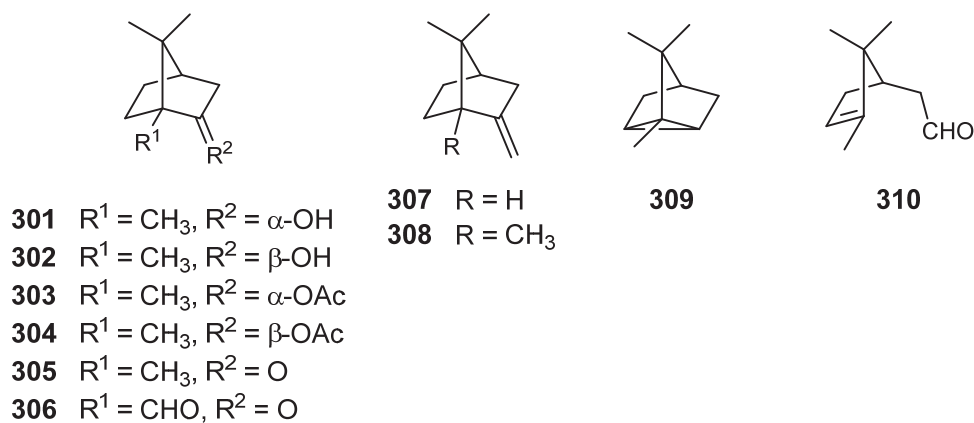
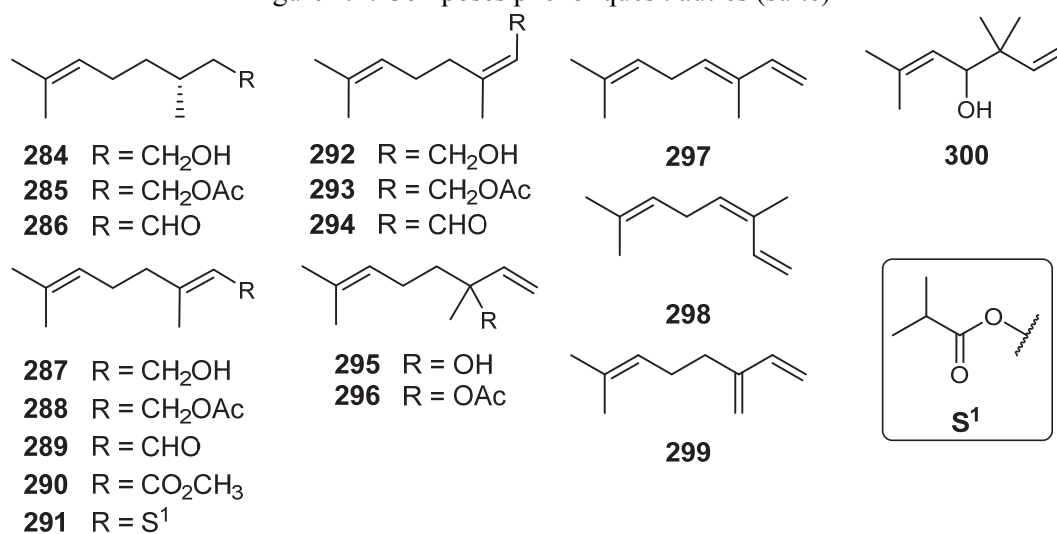


Figure 20 : Monoterpènes : acycliques, bornanes et caranes

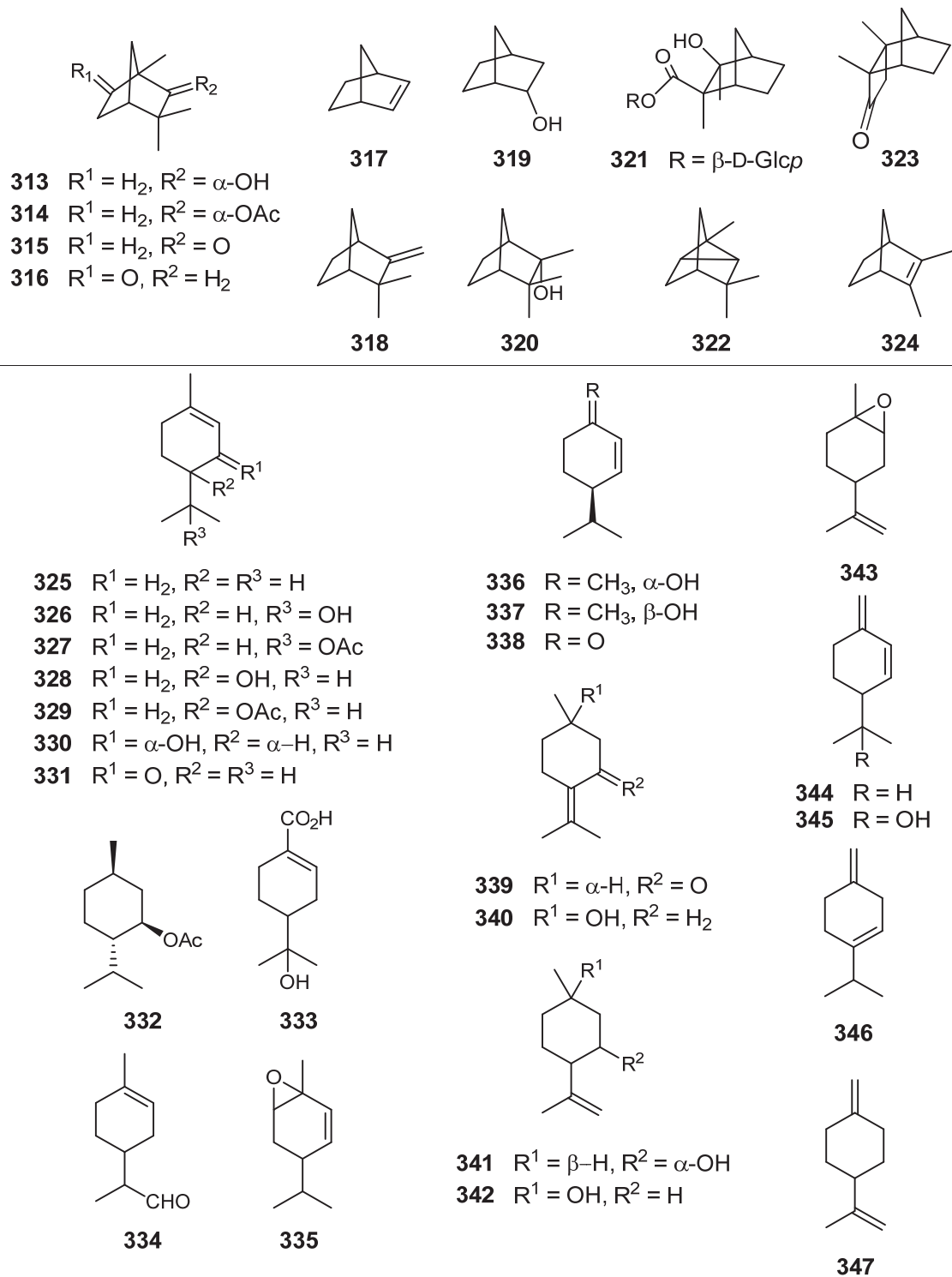


Figure 21 : Monoterpènes : fenchanes et menthanes

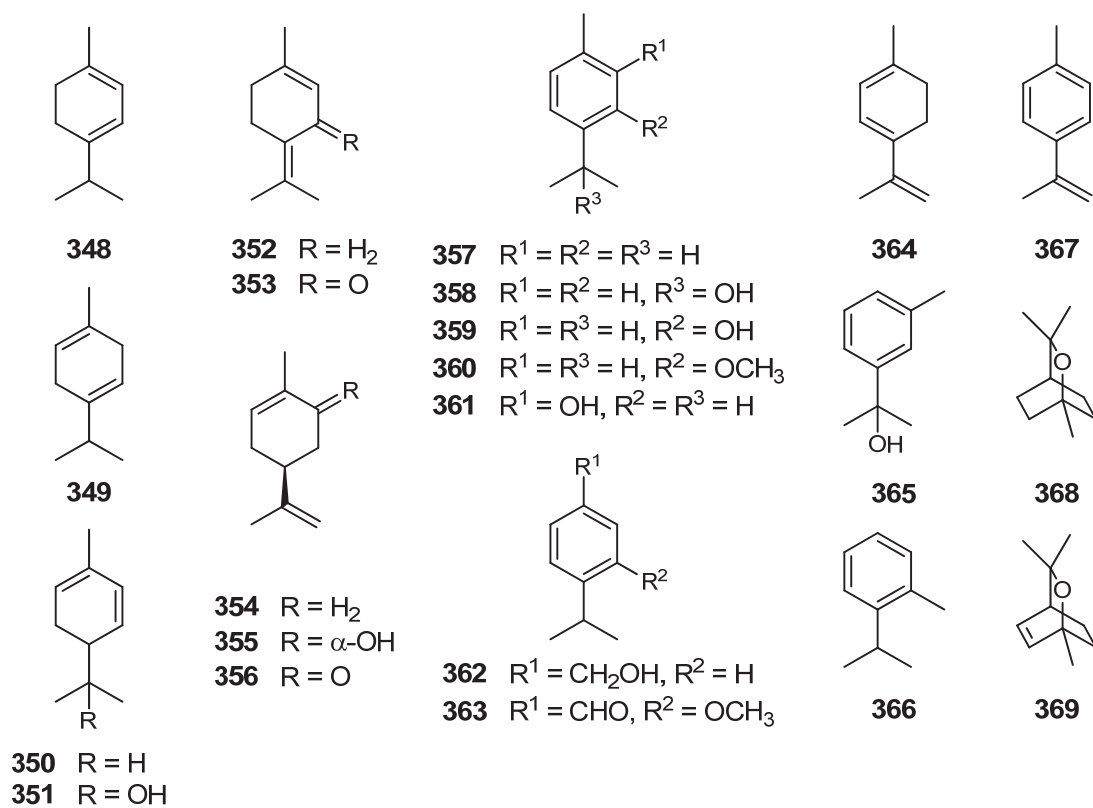


Figure 22 : Monoterpènes : menthanes (suite)

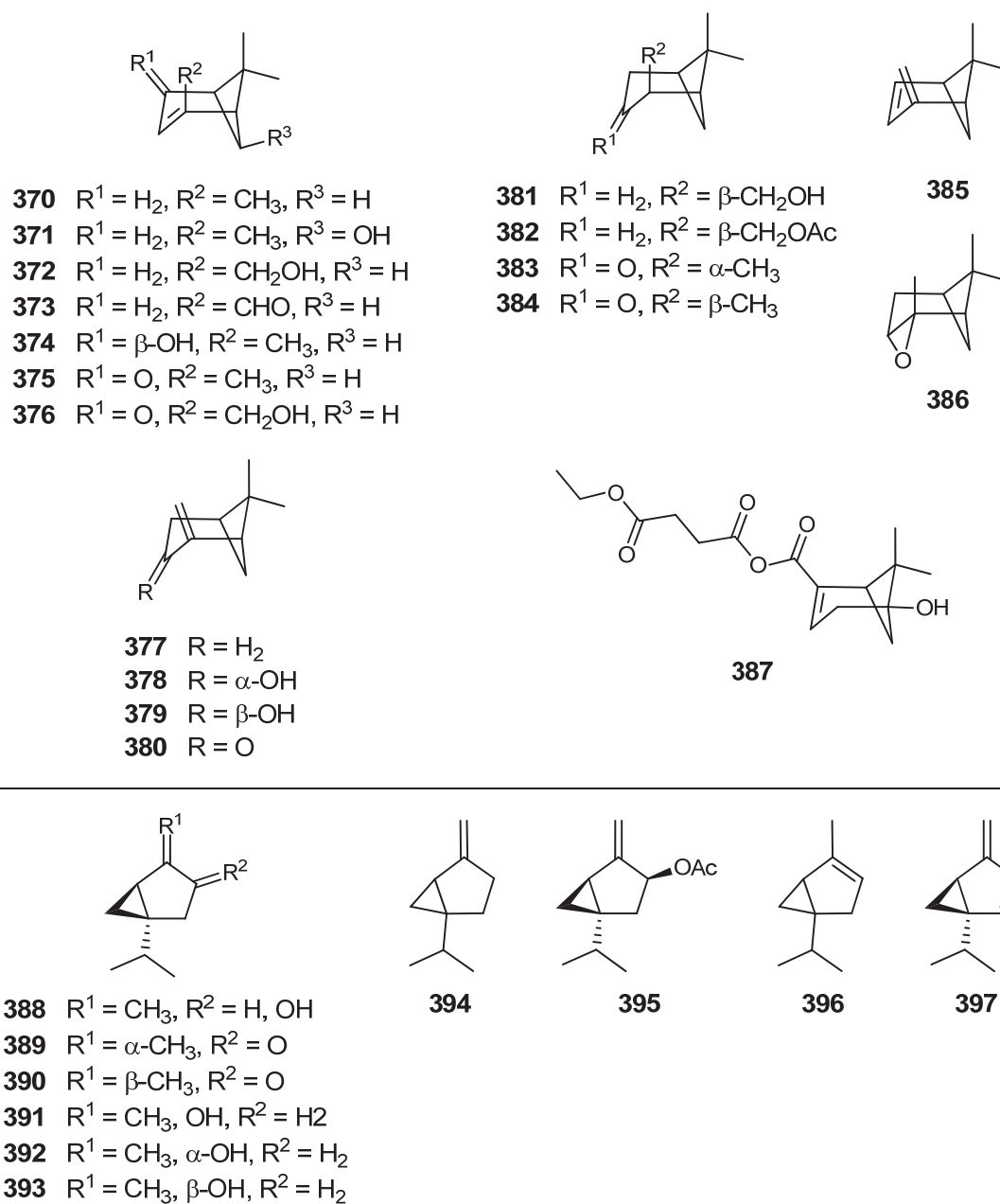


Figure 23 : Monoterpènes : pinanes et thujanes

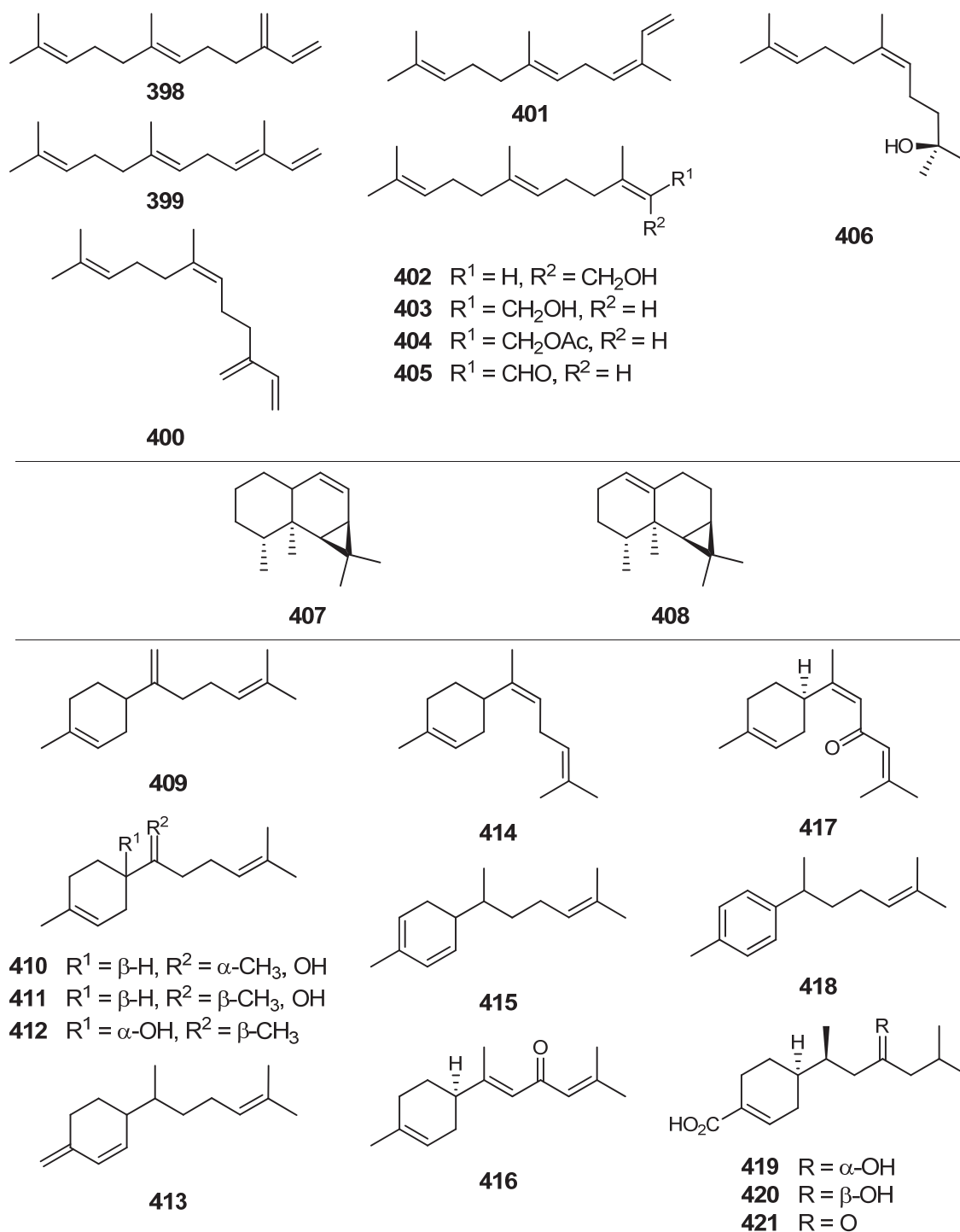
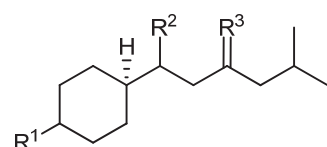
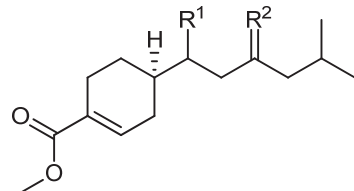
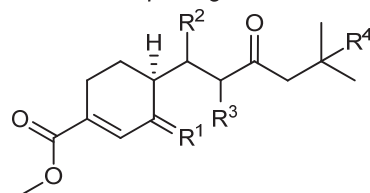


Figure 24 : Sesquiterpènes : acycliques, aristolanes et bisabolanes

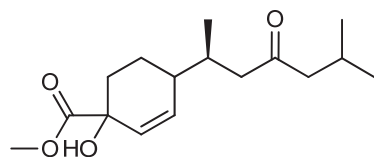
- 
- 422** $R^1 = \alpha\text{-CO}_2\text{H}$, $R^2 = \alpha\text{-CH}_3$, $R^3 = \beta\text{-OH}$
423 $R^1 = \beta\text{-CO}_2\text{H}$, $R^2 = \alpha\text{-CH}_3$, $R^3 = \beta\text{-OH}$
424 $R^1 = \beta\text{-CO}_2\text{H}$, $R^2 = \beta\text{-CH}_3$, $R^3 = \text{O}$



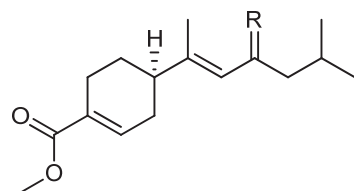
- 425** $R^1 = \alpha\text{-CH}_3$, $R^2 = \alpha\text{-OH}$
426 $R^1 = \alpha\text{-CH}_3$, $R^2 = \beta\text{-OH}$
427 $R^1 = \alpha\text{-CH}_3$, $R^2 = \text{O}$
428 $R^1 = \beta\text{-CH}_3$, $R^2 = \alpha\text{-OH}$
429 $R^1 = \beta\text{-CH}_3$, $R^2 = \beta\text{-OH}$
430 $R^1 = \beta\text{-CH}_3$, $R^2 = \text{O}$



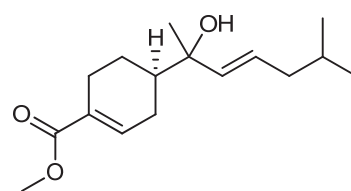
- 431** $R^1 = \text{H}_2$, $R^2 = \text{CH}_3$, $R^3 = \text{OH}$, $R^4 = \text{H}$
432 $R^1 = \text{H}_2$, $R^2 = \beta\text{-CH}_3$, $R^3 = \text{H}$, $R^4 = \text{OH}$
433 $R^1 = \text{O}$, $R^2 = \alpha\text{-CH}_3$, $R^3 = R^4 = \text{H}$
434 $R^1 = \text{O}$, $R^2 = \beta\text{-CH}_3$, $R^3 = R^4 = \text{H}$



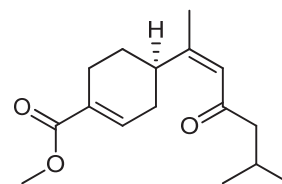
435



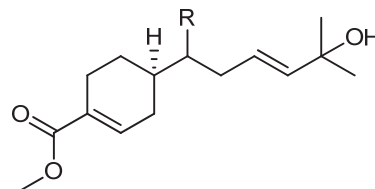
- 436** $R = \beta\text{-OH}$
437 $R = \text{O}$



438

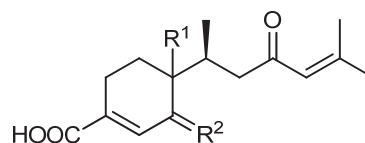


439



440 $R = \alpha\text{-CH}_3$

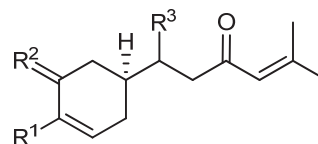
441 $R = \beta\text{-CH}_3$



442 $R^1 = \alpha\text{-H}$, $R^2 = \text{H}_2$

443 $R^1 = \alpha\text{-H}$, $R^2 = \text{O}$

444 $R^1 = \beta\text{-H}$, $R^2 = \text{O}$



445 $R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \alpha\text{-OH}$, $R^3 = \beta\text{-CH}_3$

446 $R^1 = \text{CH}_3$, $R^2 = \text{O}$, $R^3 = \beta\text{-CH}_3$

447 $R^1 = \text{CO}_2\text{CH}_3$, $R^2 = \text{H}_2$, $R^3 = \beta\text{-CH}_3$

448 $R^1 = \text{CO}_2\text{CH}_3$, $R^2 = \text{H}_2$, $R^3 = \alpha\text{-CH}_3$

Figure 25 : Sesquiterpènes : bisabolanes (suite)

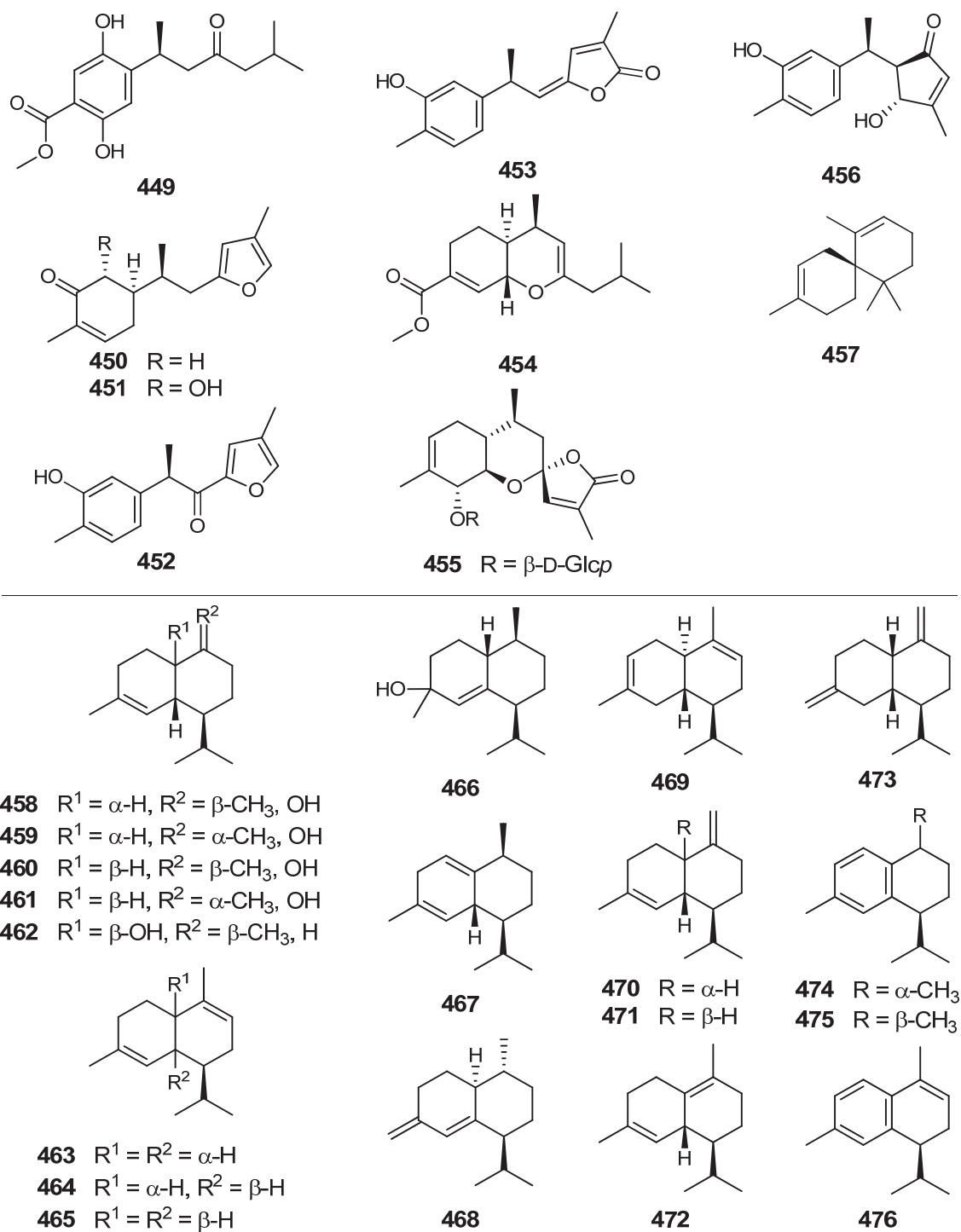


Figure 26 : Sesquiterpènes : bisabolanes (suite) et cadinanes

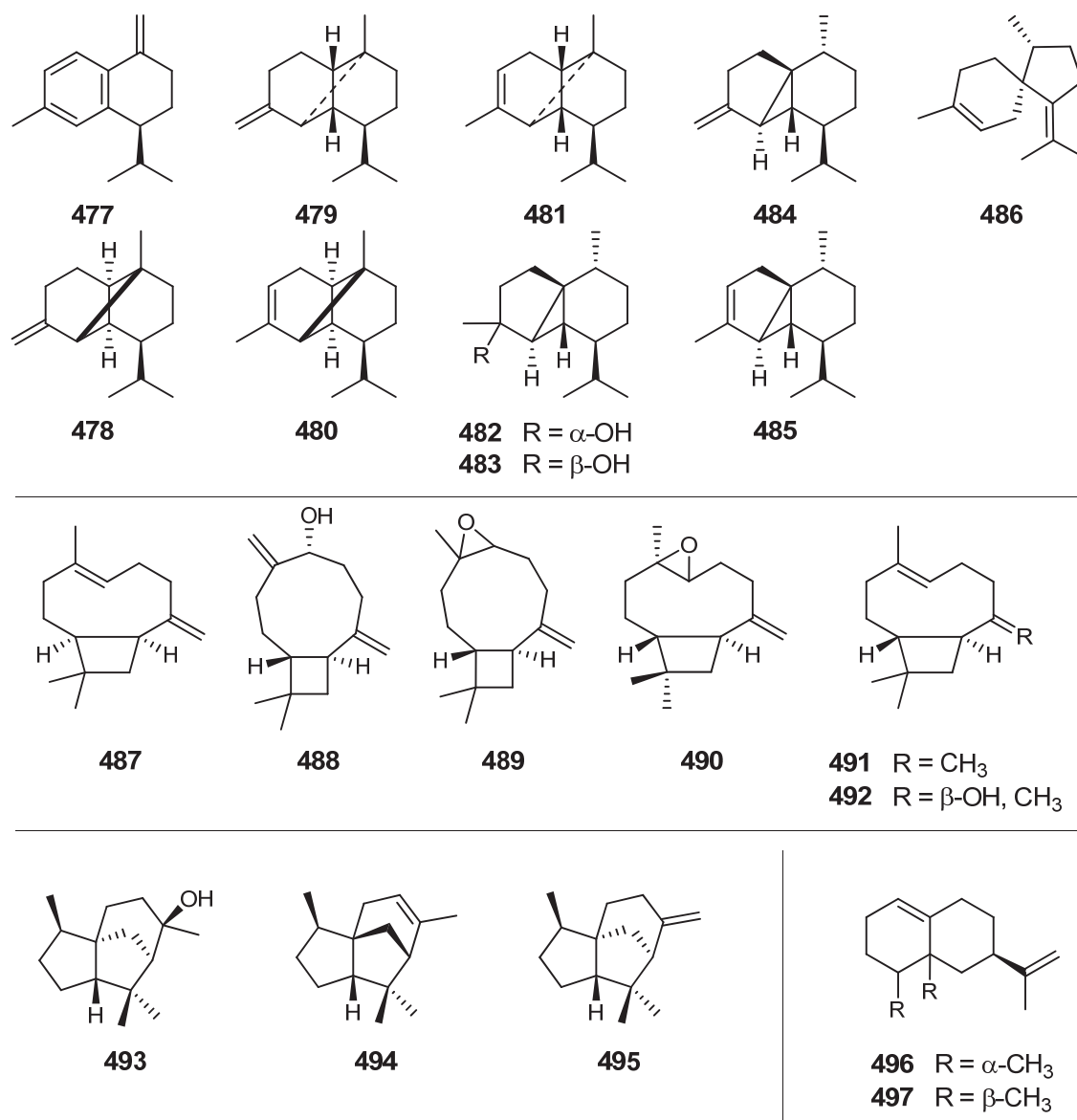
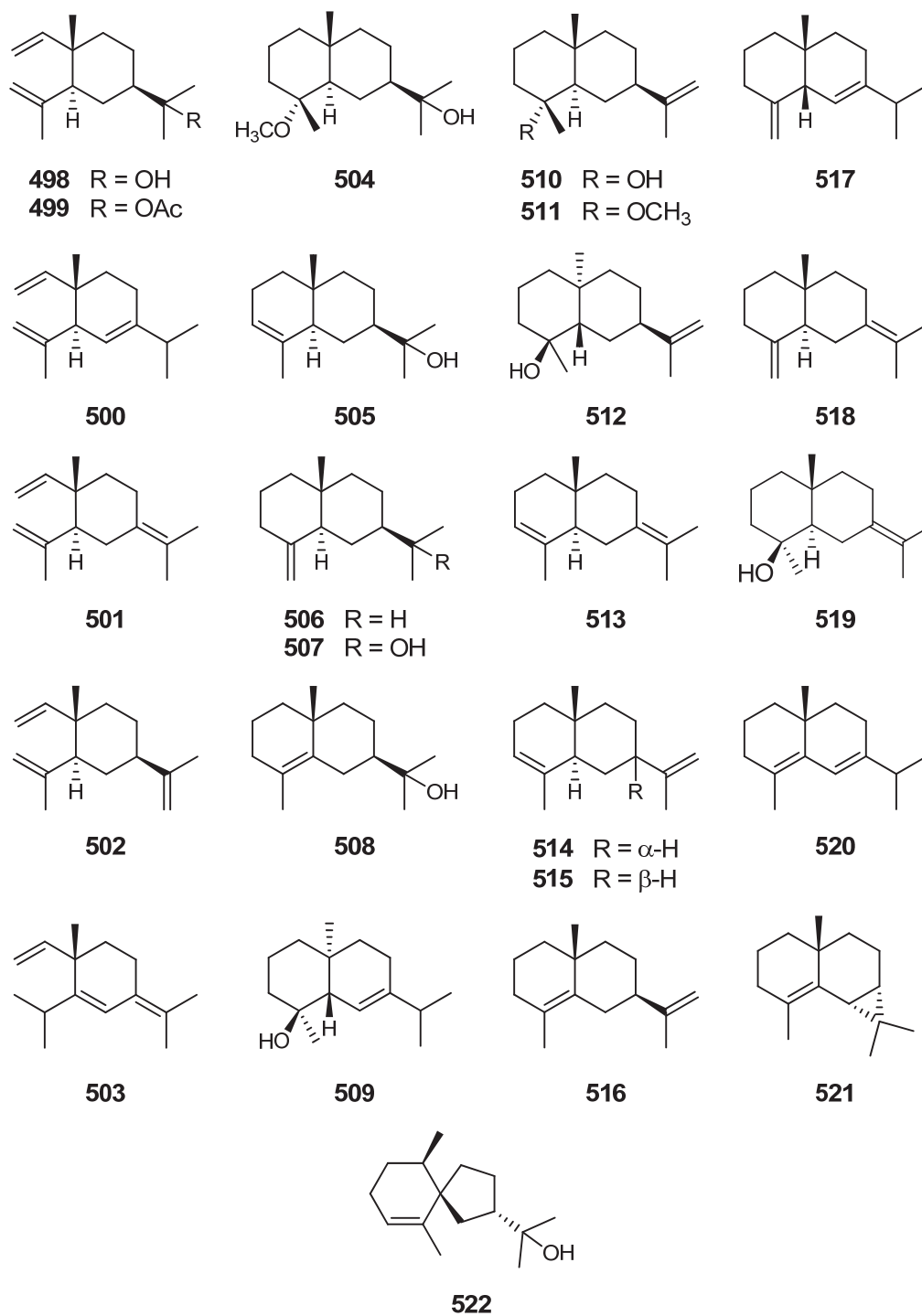


Figure 27 : Sesquiterpènes : cadinanes (suite), caryophyllanes, cédranes et éremophilanes

**Figure 28** : Sesquiterpènes : eudesmanes

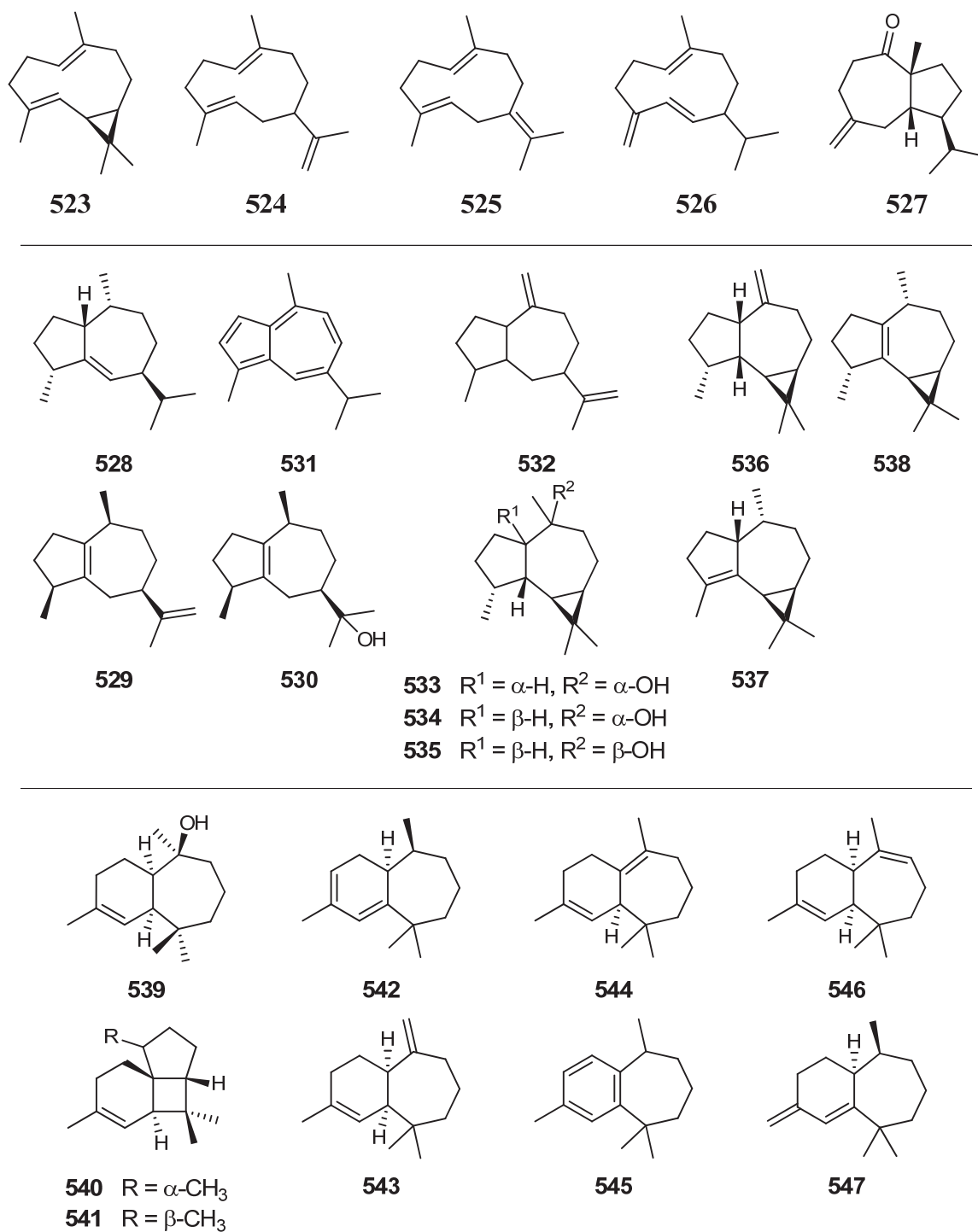
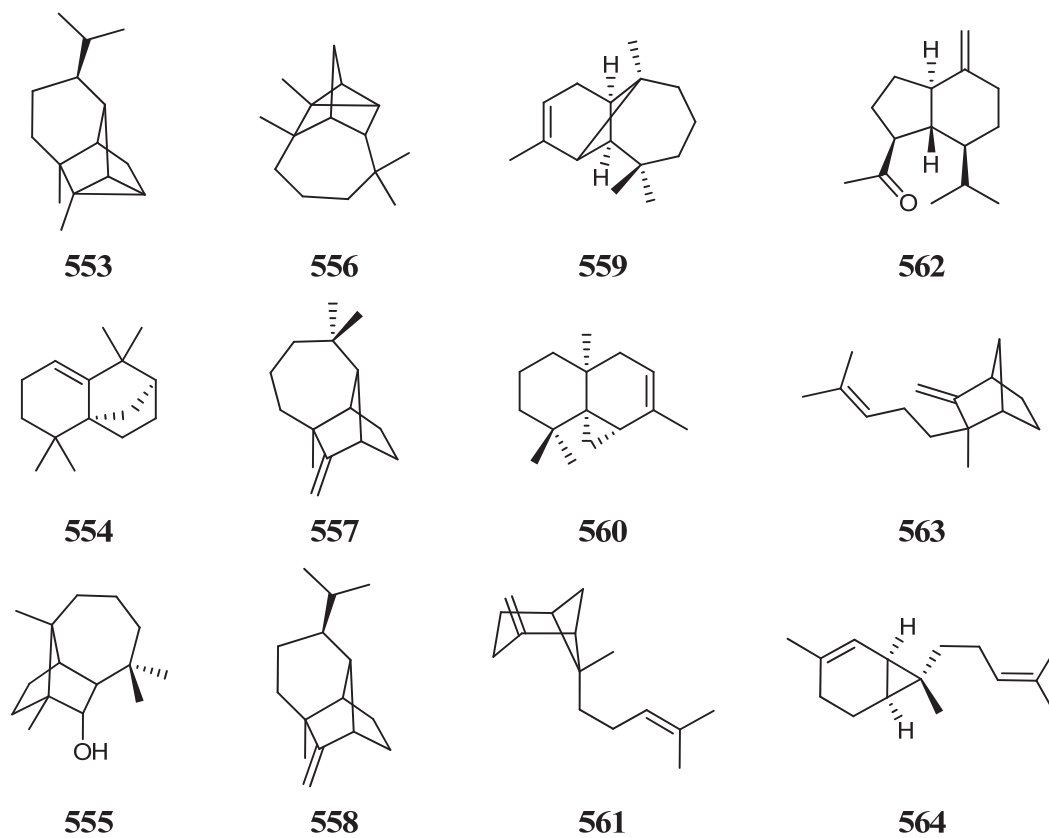
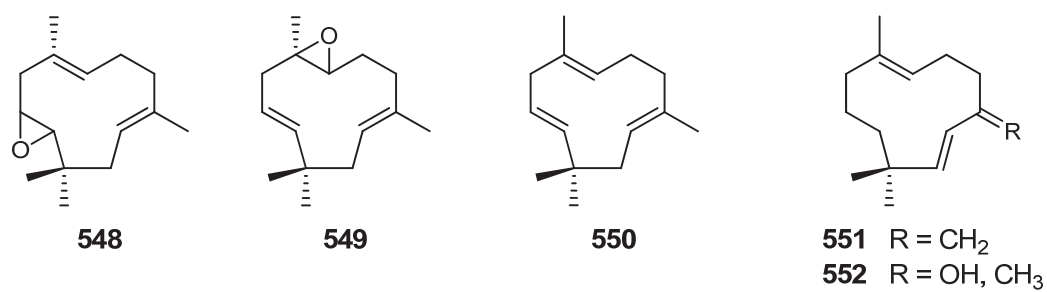


Figure 29 : Sesquiterpènes : germacrènes, guaïanes et himachalanes

**Figure 30** : Sesquiterpènes : humulanes et autres

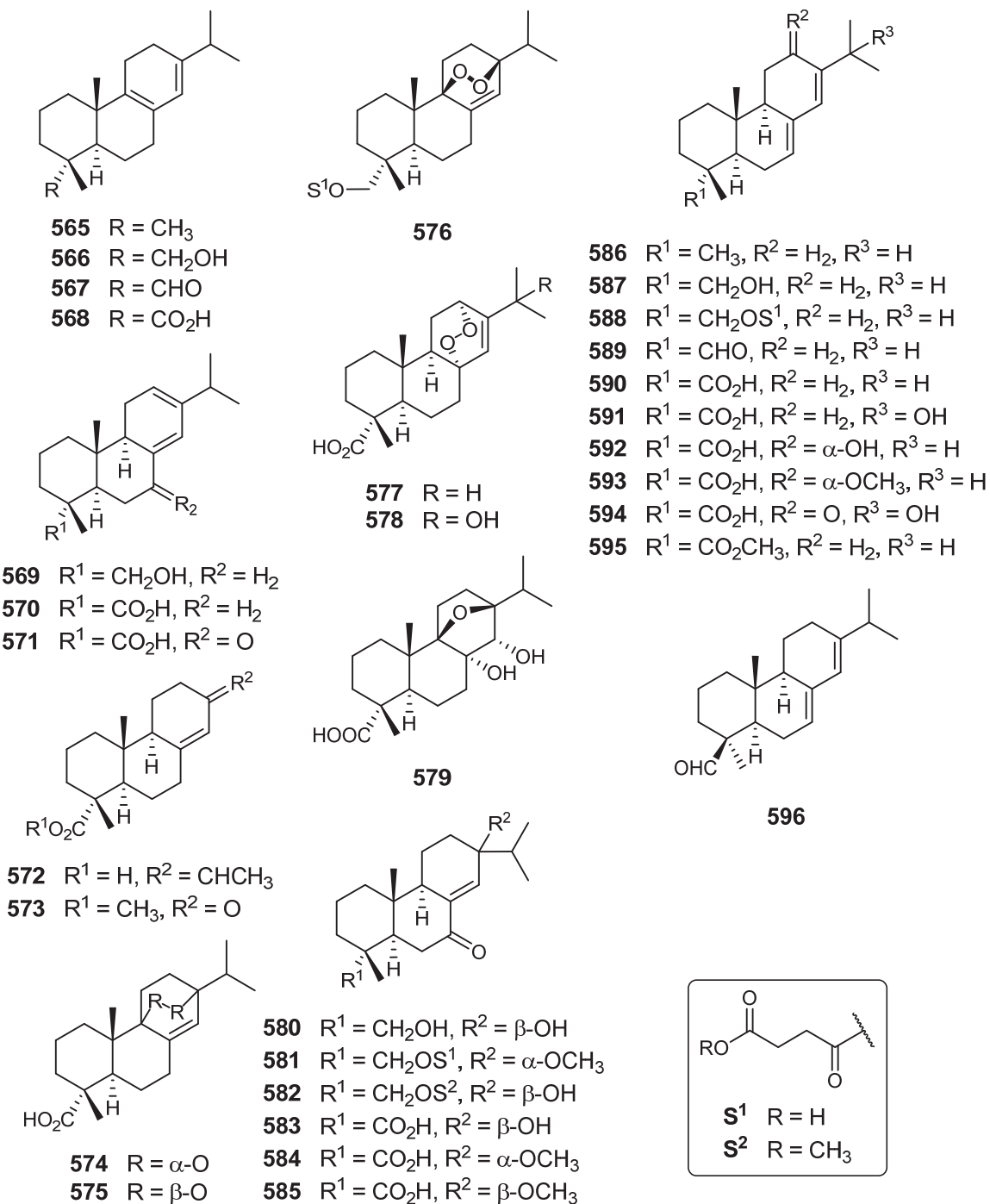
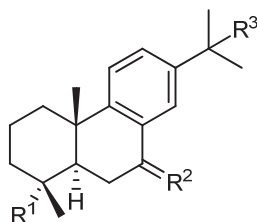
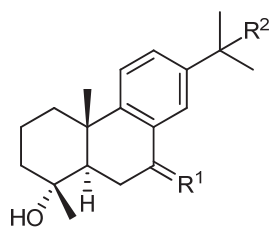


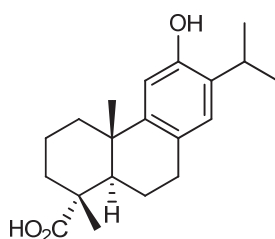
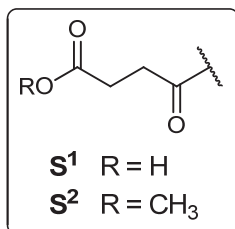
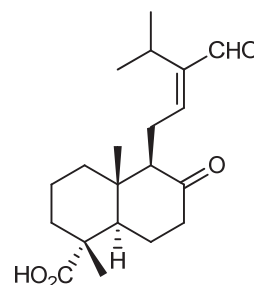
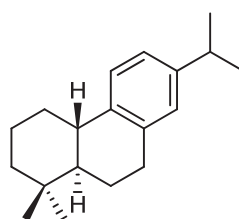
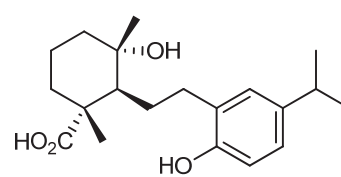
Figure 31 : Diterpènes : abiétanes



- | | |
|---|--|
| 597 $R^1 = \text{CH}_3, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{H}$ | 615 $R^1 = \text{CH}_2\text{OS}^2, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{OH}$ |
| 598 $R^1 = \text{CH}_3, R^2 = \text{O}, R^3 = \text{H}$ | 616 $R^1 = \text{CH}_2\text{OS}^2, R^2 = \alpha\text{-OH}, R^3 = \text{H}$ |
| 599 $R^1 = \text{CH}_2\text{OH}, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{H}$ | 617 $R^1 = \text{CH}_2\text{OS}^2, R^2 = \text{O}, R^3 = \text{OH}$ |
| 600 $R^1 = \text{CH}_2\text{OH}, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{OH}$ | 618 $R^1 = \text{CHO}, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{H}$ |
| 601 $R^1 = \text{CH}_2\text{OH}, R^2 = \alpha\text{-OH}, R^3 = \text{H}$ | 619 $R^1 = \text{CO}_2\text{H}, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{H}$ |
| 602 $R^1 = \text{CH}_2\text{OH}, R^2 = \beta\text{-OH}, R^3 = \text{H}$ | 620 $R^1 = \text{CO}_2\text{H}, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{OH}$ |
| 603 $R^1 = \text{CH}_2\text{OH}, R^2 = \text{O}, R^3 = \text{H}$ | 621 $R^1 = \text{CO}_2\text{H}, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{OCH}_3$ |
| 604 $R^1 = \text{CH}_2\text{OH}, R^2 = \text{O}, R^3 = \text{OH}$ | 622 $R^1 = \text{CO}_2\text{H}, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{OEt}$ |
| 605 $R^1 = \text{CH}_2\text{OS}^1, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{H}$ | 623 $R^1 = \text{CO}_2\text{H}, R^2 = \alpha\text{-OH}, R^3 = \text{H}$ |
| 606 $R^1 = \text{CH}_2\text{OS}^1, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{OH}$ | 624 $R^1 = \text{CO}_2\text{H}, R^2 = \beta\text{-OH}, R^3 = \text{H}$ |
| 607 $R^1 = \text{CH}_2\text{OS}^1, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{OCH}_3$ | 625 $R^1 = \text{CO}_2\text{H}, R^2 = \alpha\text{-OH}, R^3 = \text{OH}$ |
| 608 $R^1 = \text{CH}_2\text{OS}^1, R^2 = \alpha\text{-OH}, R^3 = \text{H}$ | 626 $R^1 = \text{CO}_2\text{H}, R^2 = \beta\text{-OH}, R^3 = \text{OH}$ |
| 609 $R^1 = \text{CH}_2\text{OS}^1, R^2 = \alpha\text{-OH}, R^3 = \text{OH}$ | 627 $R^1 = \text{CO}_2\text{H}, R^2 = \alpha\text{-OH}, R^3 = \text{OCH}_3$ |
| 610 $R^1 = \text{CH}_2\text{OS}^1, R^2 = \alpha\text{-OH}, R^3 = \text{OCH}_3$ | 628 $R^1 = \text{CO}_2\text{H}, R^2 = \alpha\text{-OCH}_3, R^3 = \text{H}$ |
| 611 $R^1 = \text{CH}_2\text{OS}^1, R^2 = \alpha\text{-OCH}_3, R^3 = \text{H}$ | 629 $R^1 = \text{CO}_2\text{H}, R^2 = \text{O}, R^3 = \text{H}$ |
| 612 $R^1 = \text{CH}_2\text{OS}^1, R^2 = \text{O}, R^3 = \text{H}$ | 630 $R^1 = \text{CO}_2\text{H}, R^2 = \text{O}, R^3 = \text{OH}$ |
| 613 $R^1 = \text{CH}_2\text{OS}^1, R^2 = \text{O}, R^3 = \text{OH}$ | 631 $R^1 = \text{CO}_2\text{CH}_3, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{H}$ |
| 614 $R^1 = \text{CH}_2\text{OS}^2, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{H}$ | 632 $R^1 = \text{CO}_2\text{CH}_3, R^2 = \text{H}_2, R^3 = \text{OH}$ |



- 633** $R^1 = \text{H}_2, R^2 = \text{H}$
634 $R^1 = \text{H}_2, R^2 = \text{OH}$
635 $R^1 = \text{O}, R^2 = \text{OH}$

**636****638****637****639****Figure 32 : Diterpènes : abiétanes (suite)**

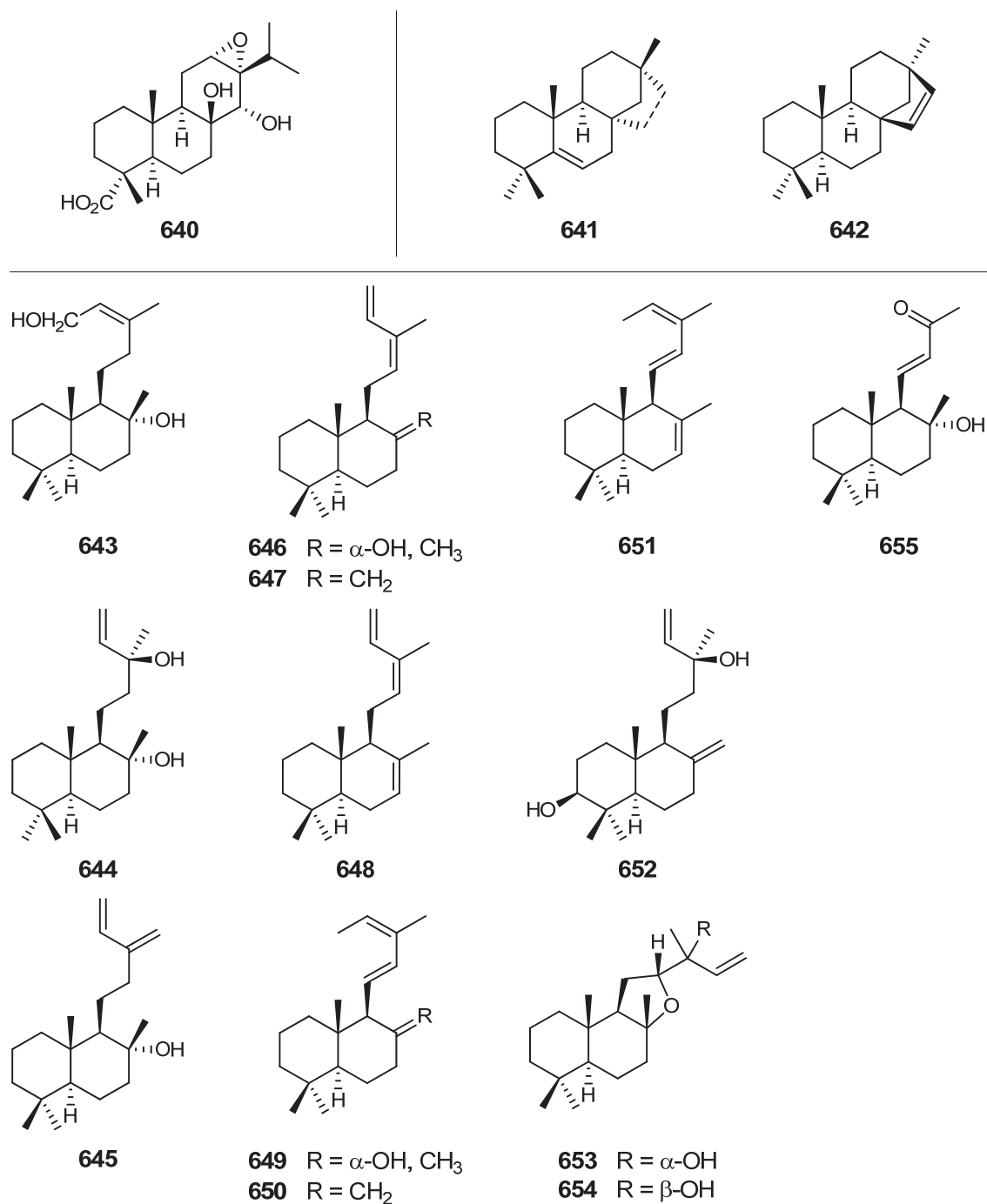


Figure 33 : Diterpènes : abiétanes (suite), kauranes et labdanes

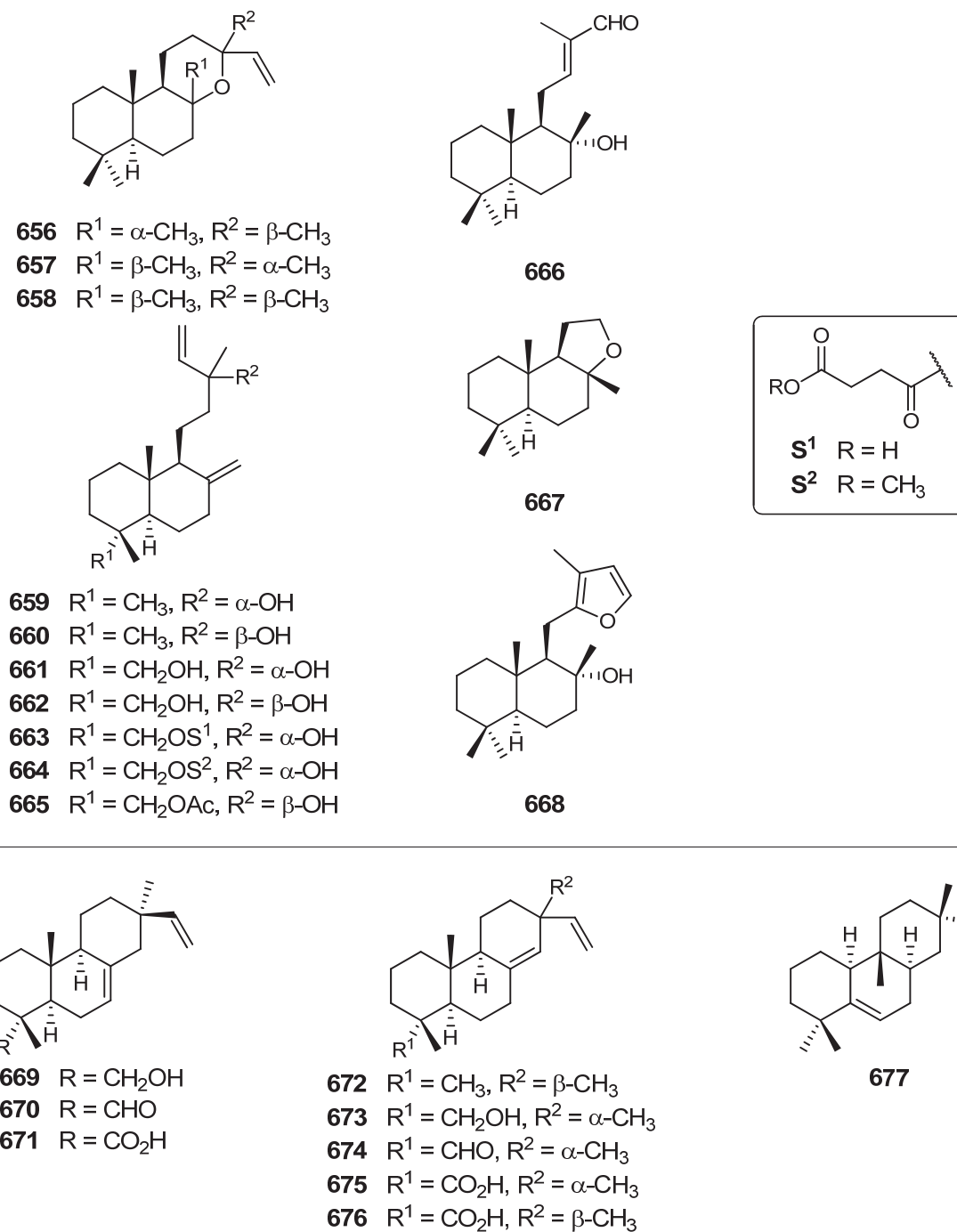
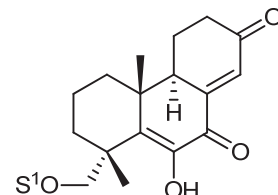
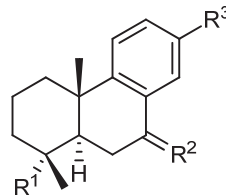
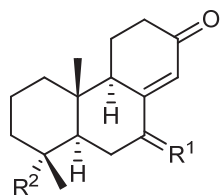
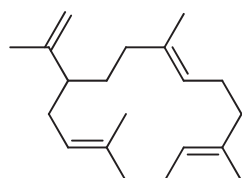
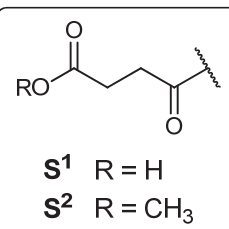
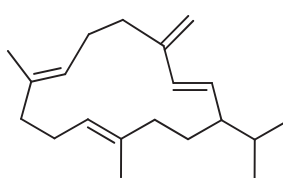
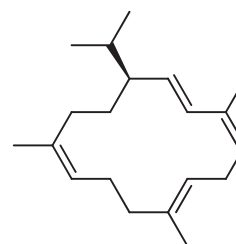
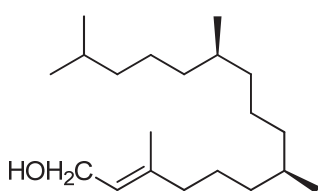
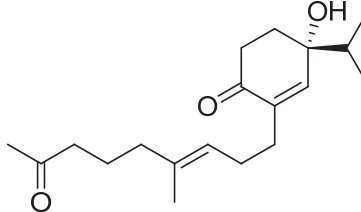
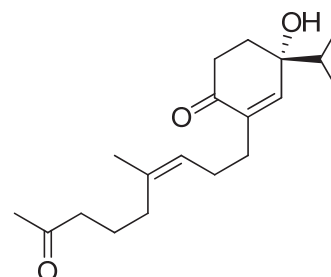


Figure 34 : Diterpènes : labdanes (suite) et pimaranes

**697****678** $R^1 = H_2, R^2 = CH_2OH$ **679** $R^1 = H_2, R^2 = CH_2OS^1$ **680** $R^1 = H_2, R^2 = CHO$ **681** $R^1 = H_2, R^2 = CO_2H$ **682** $R^1 = \alpha-OH, R^2 = CH_3$ **683** $R^1 = \alpha-OH, R^2 = CH_2OH$ **684** $R^1 = \alpha-OH, R^2 = CH_2OS^1$ **685** $R^1 = \alpha-OH, R^2 = CO_2H$ **686** $R^1 = O, R^2 = CH_2OH$ **687** $R^1 = O, R^2 = CH_2OS^1$ **688** $R^1 = O, R^2 = CH_2OS^2$ **689** $R^1 = O, R^2 = CO_2H$ **690** $R^1 = CH_2OS^1, R^2 = H_2, R^3 = OH$ **691** $R^1 = CH_2OS^1, R^2 = H_2, R^3 = Ac$ **692** $R^1 = CH_2OS^1, R^2 = \alpha-OH, R^3 = Ac$ **693** $R^1 = CH_2OS^1, R^2 = O, R^3 = Ac$ **694** $R^1 = CO_2H, R^2 = H_2, R^3 = Ac$ **695** $R^1 = CO_2H, R^2 = \alpha-OH, R^3 = Ac$ **696** $R^1 = CO_2H, R^2 = O, R^3 = Ac$ **698****699****700****701****702****703****Figure 35** : Diterpènes : podocarpanes et autres

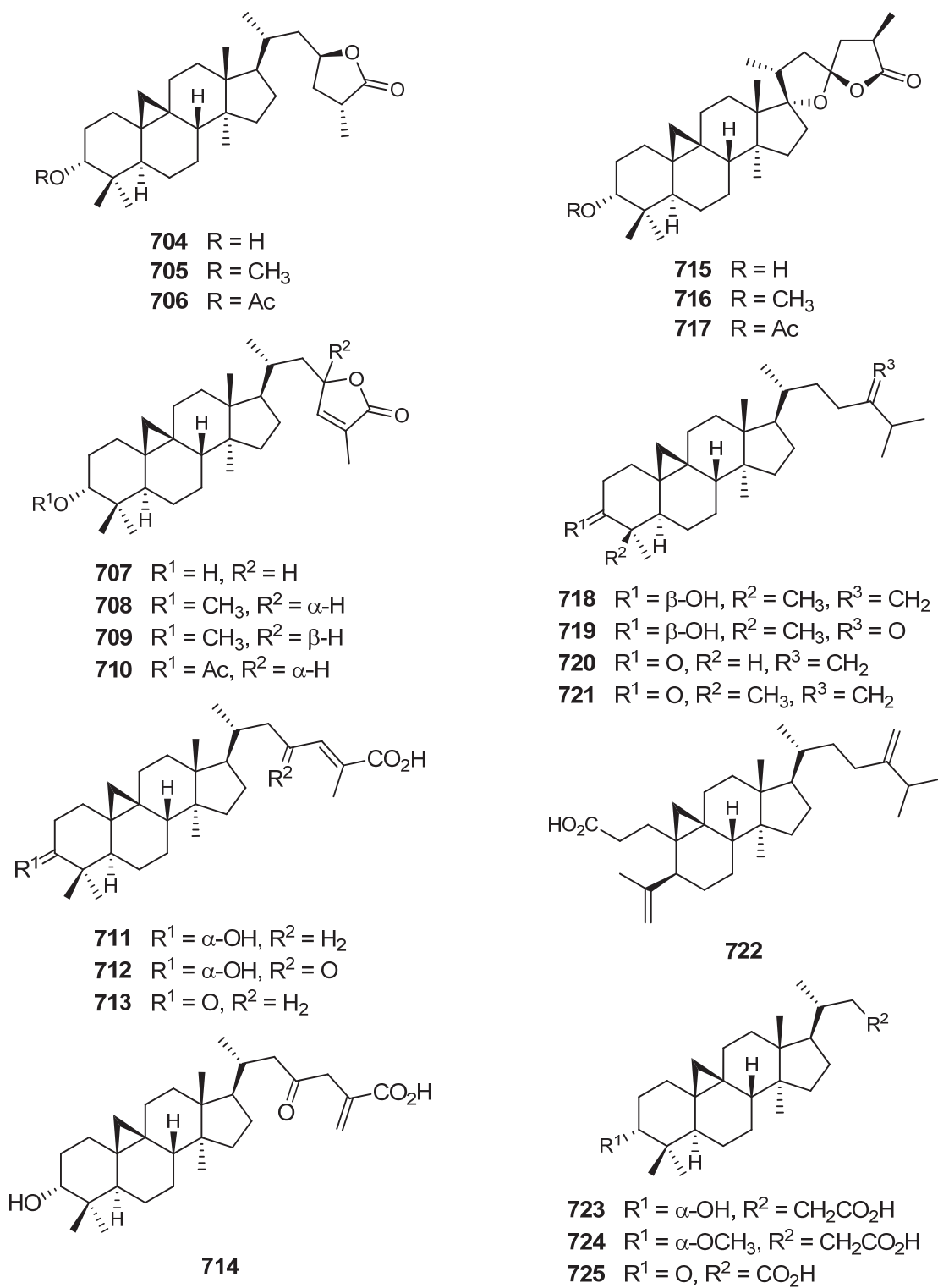
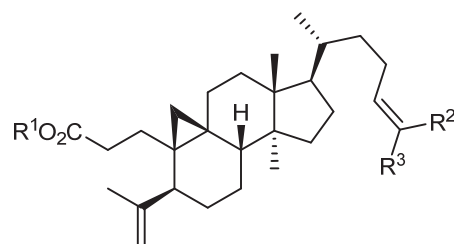
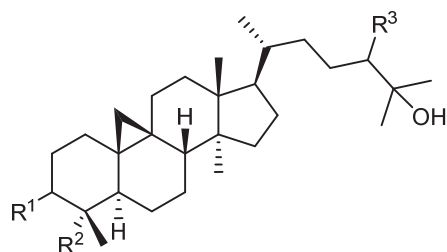


Figure 36 : Triterpènes : cycloartanes



732 $R^1 = H, R^2 = CH_3, R^3 = CO_2H$

733 $R^1 = CH_3, R^2 = CO_2H, R^3 = CH_3$

726 $R^1 = \alpha-OH, R^2 = CH_3, R^3 = \beta-OH$

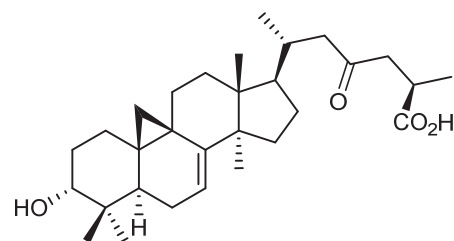
727 $R^1 = \alpha-OH, R^2 = CH_2OH, R^3 = \alpha-OH$

728 $R^1 = \beta-OH, R^2 = CH_3, R^3 = \beta-OH$

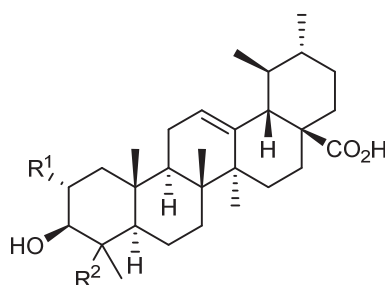
729 $R^1 = \alpha-OCH_3, R^2 = CH_3, R^3 = \beta-OH$

730 $R^1 = \alpha-OCH_3, R^2 = CH_2OH, R^3 = \alpha-OH$

731 $R^1 = \beta-OAc, R^2 = CH_3, R^3 = \beta-OH$



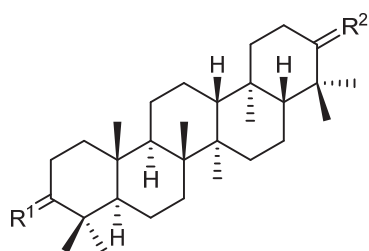
734



735 $R^1 = H, R^2 = CH_3$

736 $R^1 = OH, R^2 = \alpha-CH_2OH$

737 $R^1 = OH, R^2 = \beta-CH_2OH$

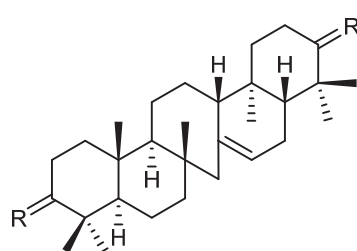


738 $R^1 = \alpha-OH, R^2 = \beta-OH$

739 $R^1 = \alpha-OH, R^2 = O$

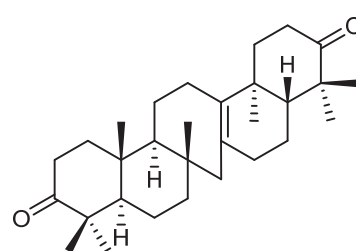
740 $R^1 = \beta-OH, R^2 = \alpha-OH$

741 $R^1 = O, R^2 = O$



742 $R = \beta-OCH_3$

743 $R = O$



744

Figure 37 : Triterpènes : cycloartanes (suite), ursanes et gammacérane

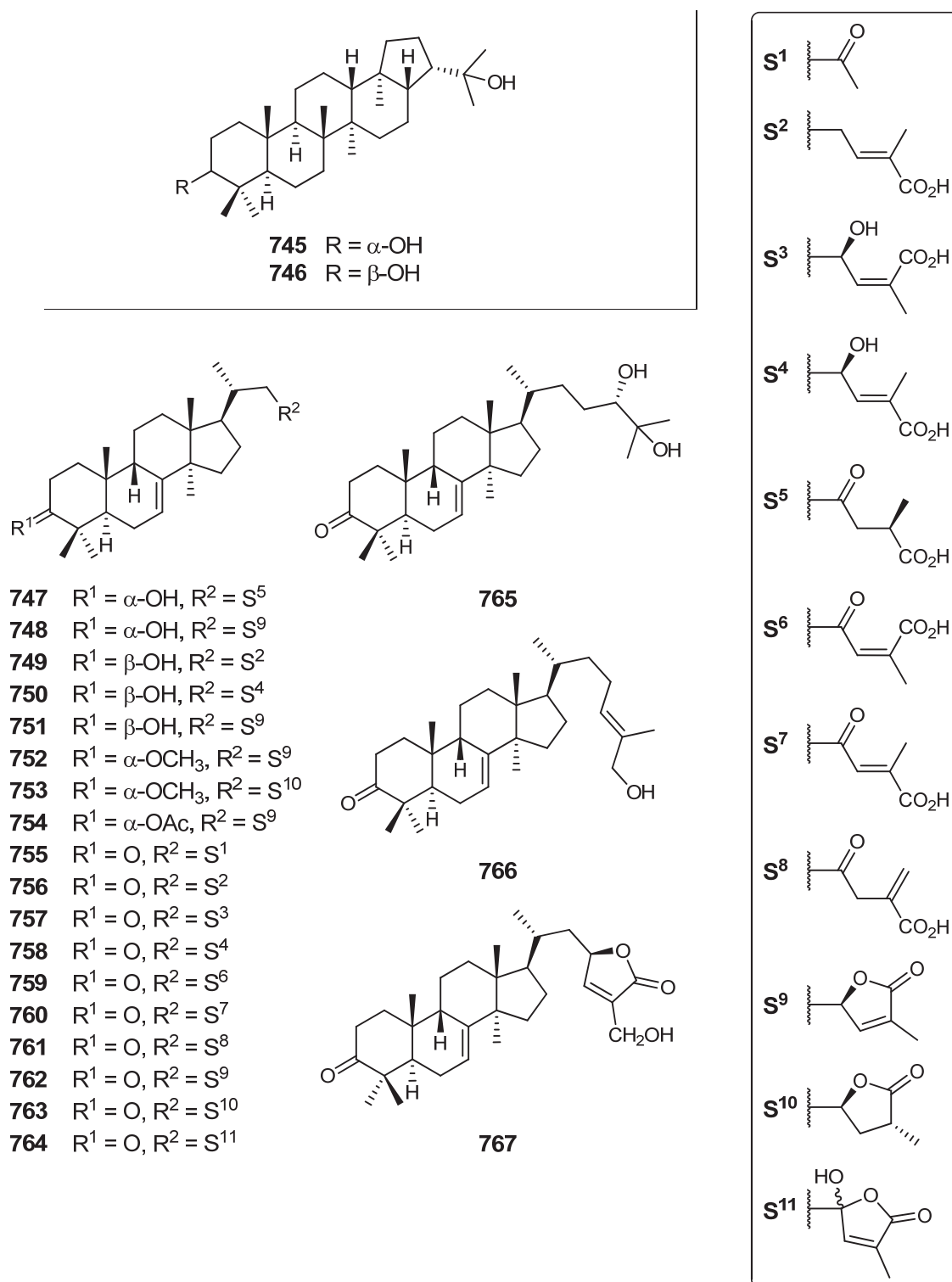


Figure 38 : Triterpènes : hopanes et lanostanes

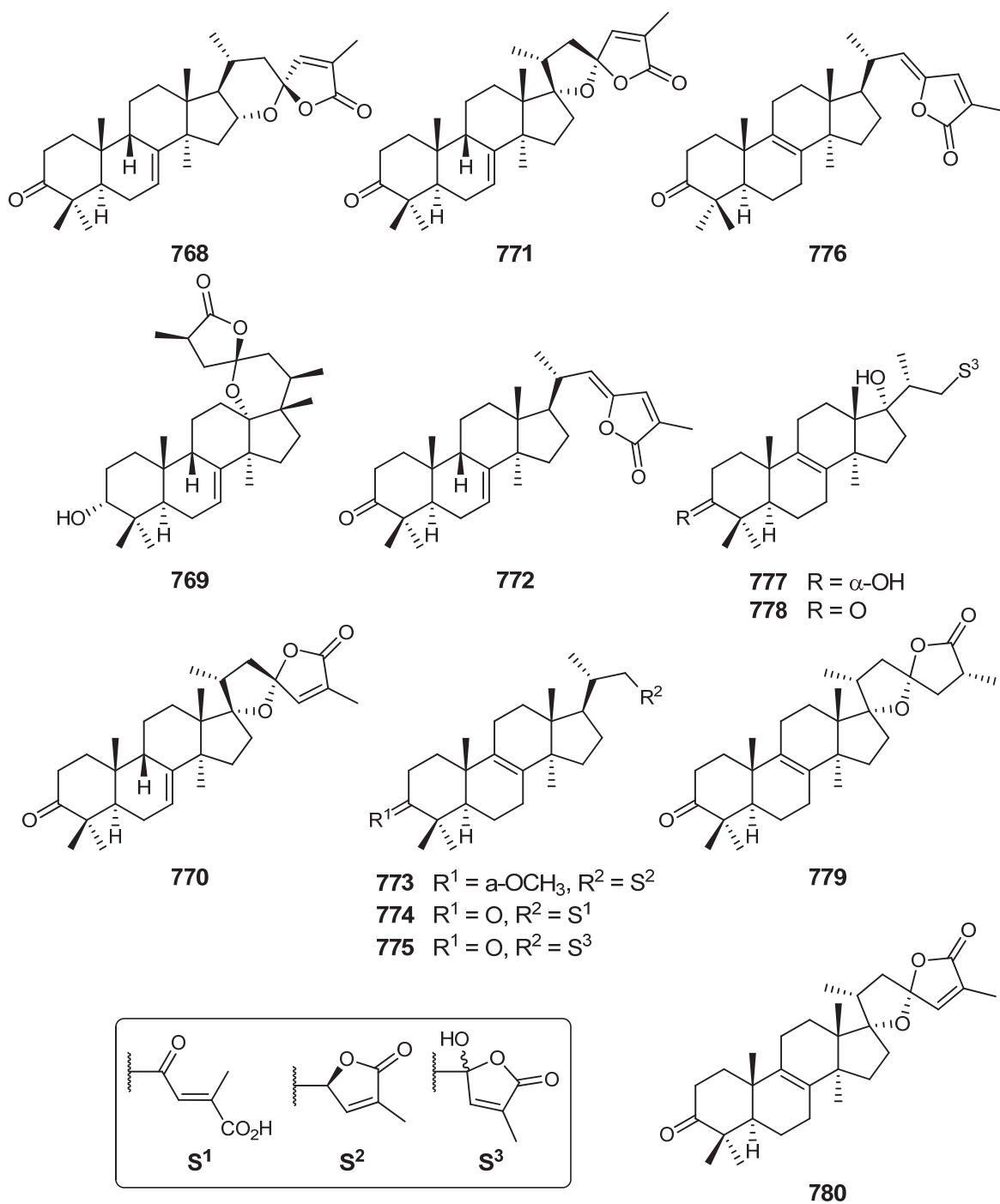


Figure 39 : Triterpènes : lanostanes (suite)

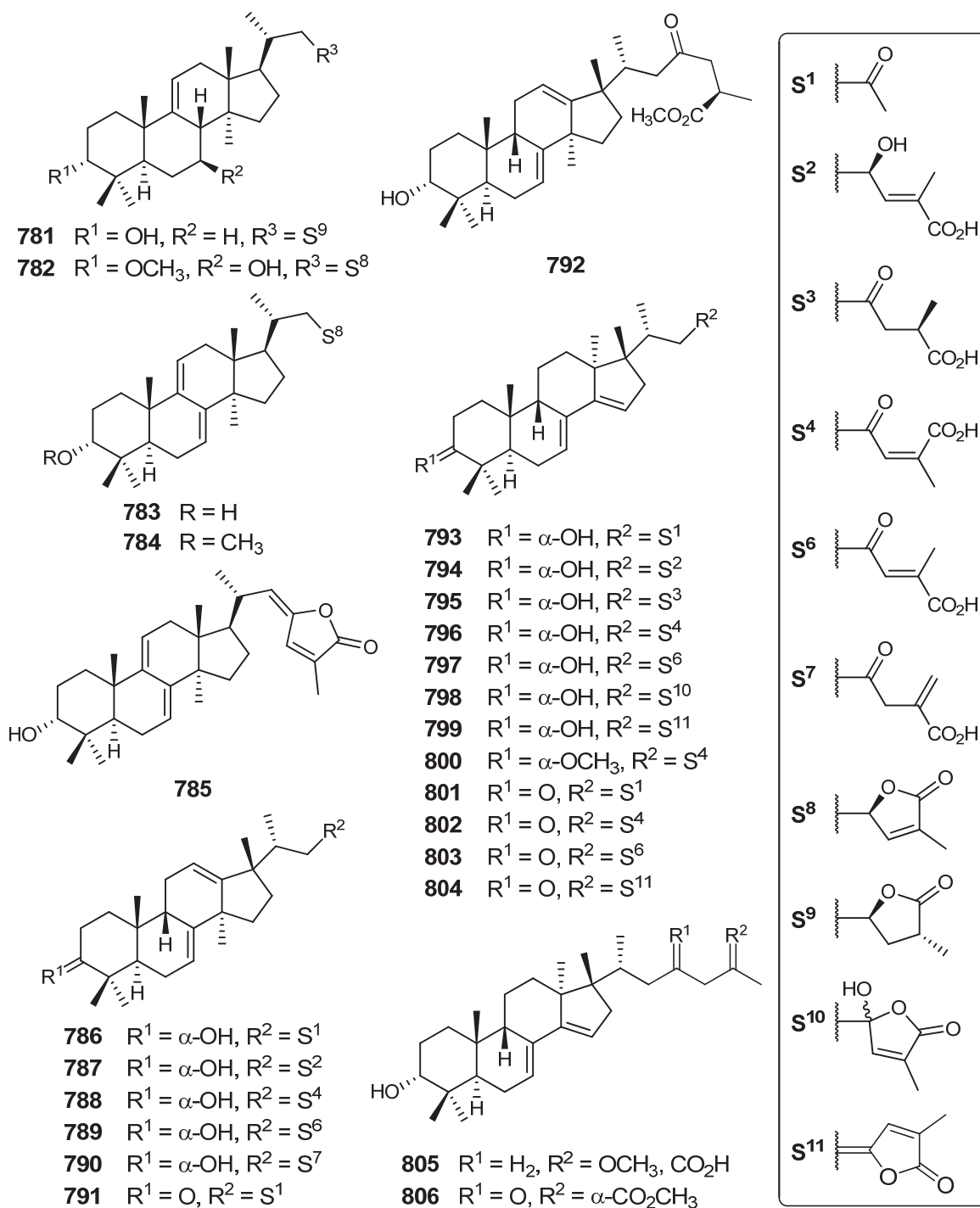


Figure 40 : Triterpènes : lanostanes (suite)

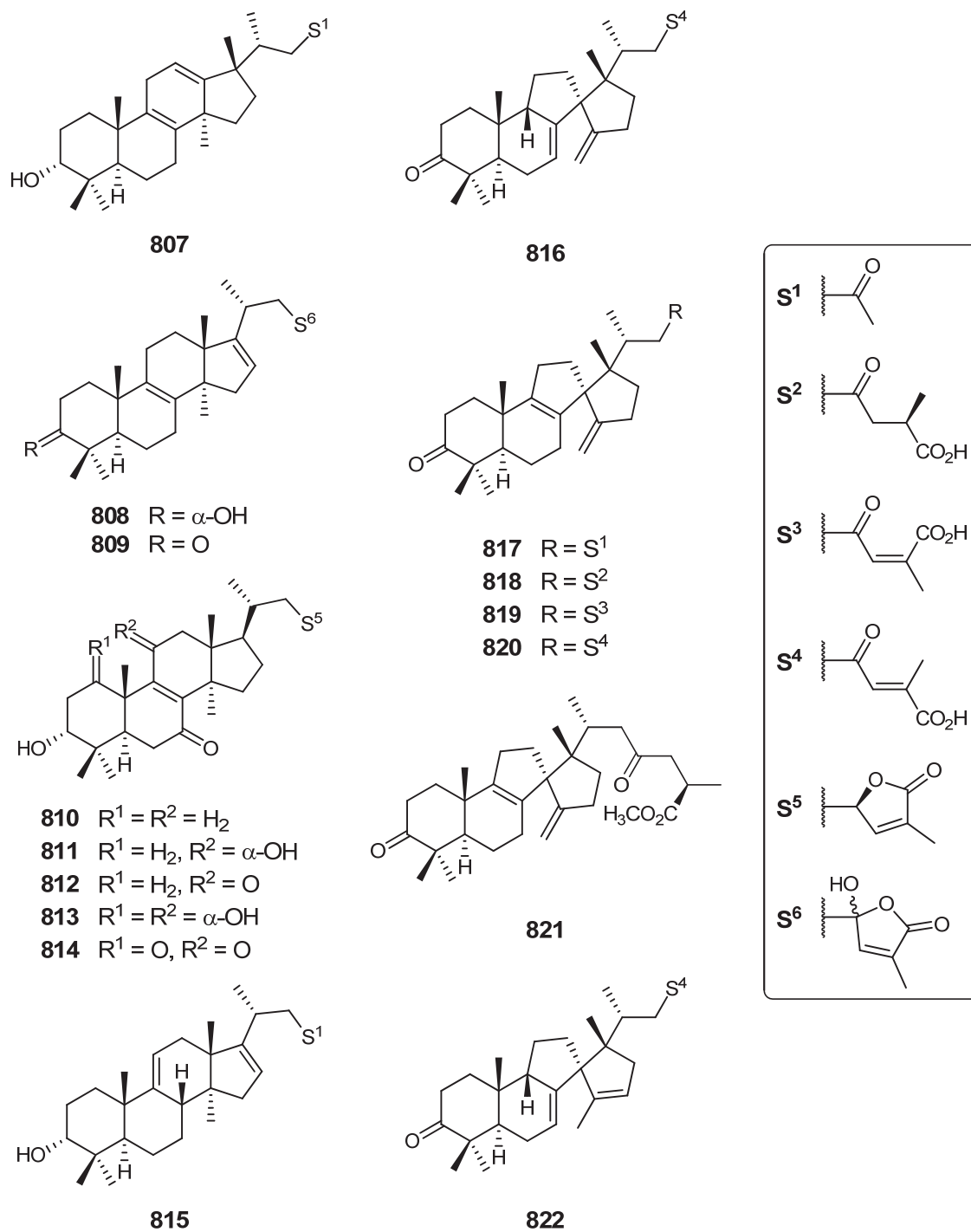


Figure 41 : Triterpènes : lanostanes (suite)

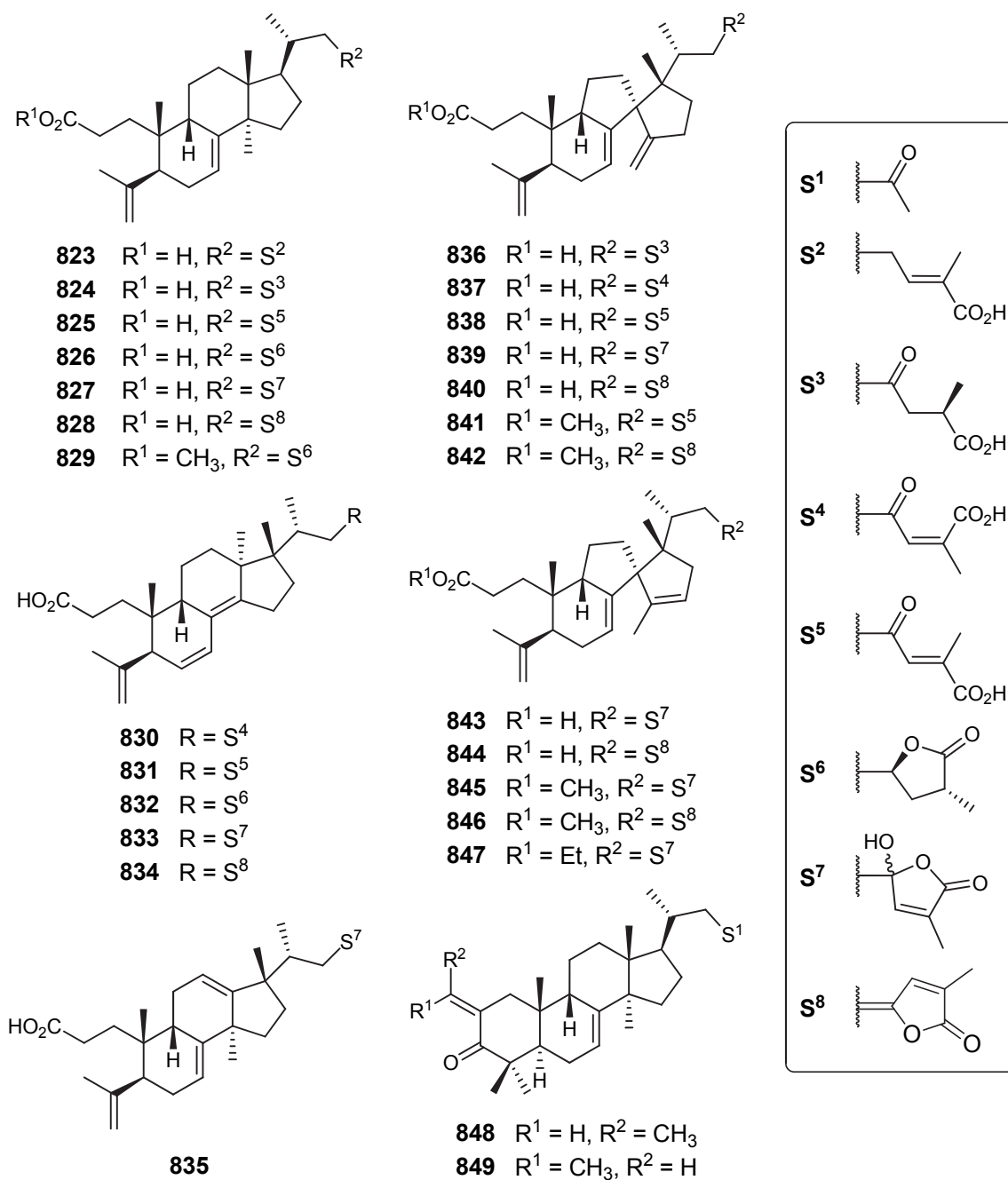
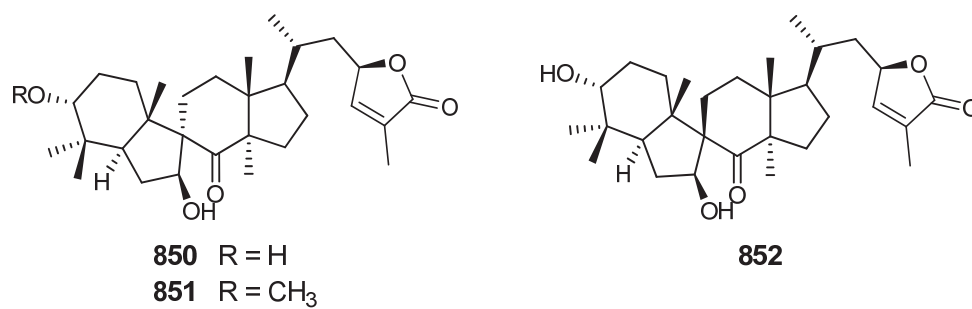
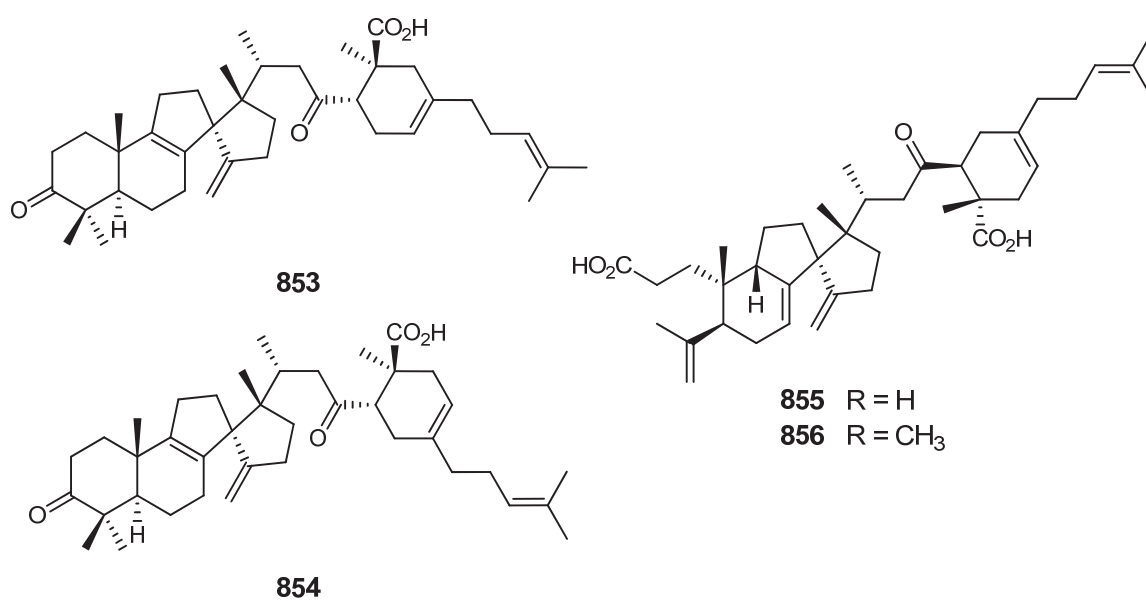
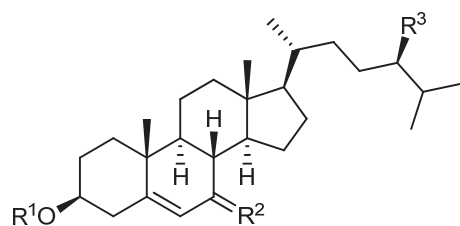


Figure 42 : Triterpènes : lanostanes (suite)

**Figure 43** : Triterpènes : lanostanes (suite)**Figure 44** : Tétraterpènes

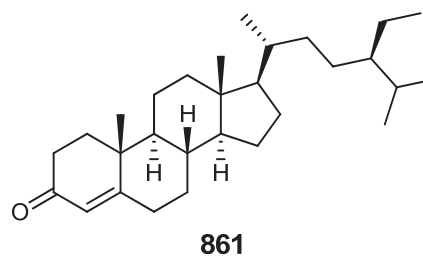


857 $R^1 = H, R^2 = H_2, R^3 = CH_3$

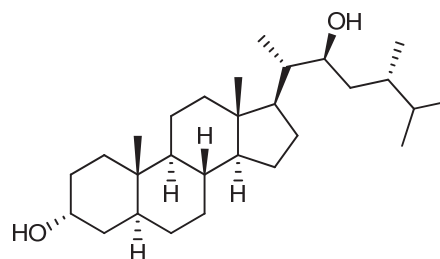
858 $R^1 = H, R^2 = H_2, R^3 = Et$

859 $R^1 = H, R^2 = O, R^3 = H$

860 $R^1 = \beta\text{-D-Glcp}, R^2 = H_2, R^3 = Et$



861



862

Figure 45 : Stérols

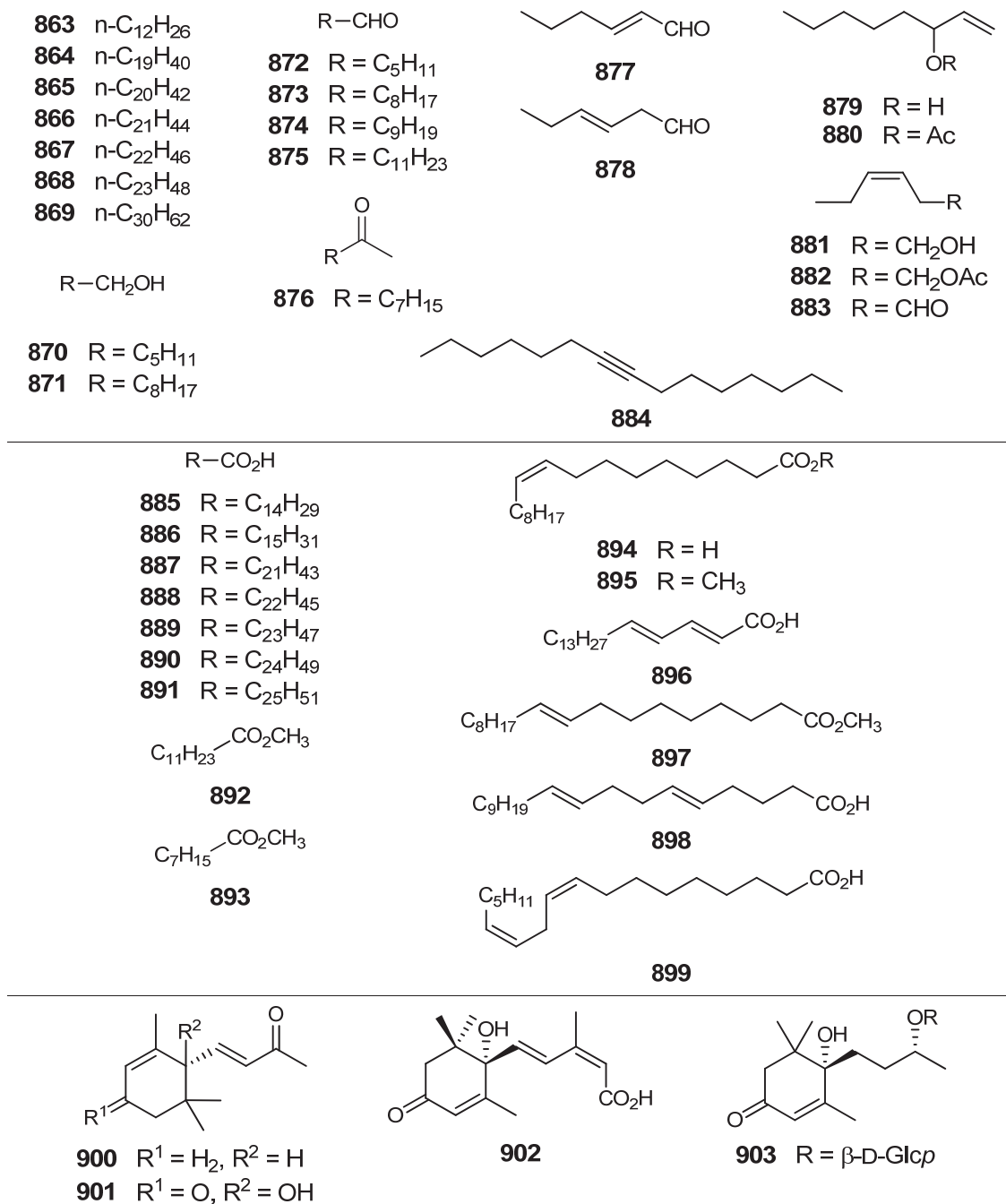


Figure 46 : Autres composés : longue chaîne, acide gras et ionones

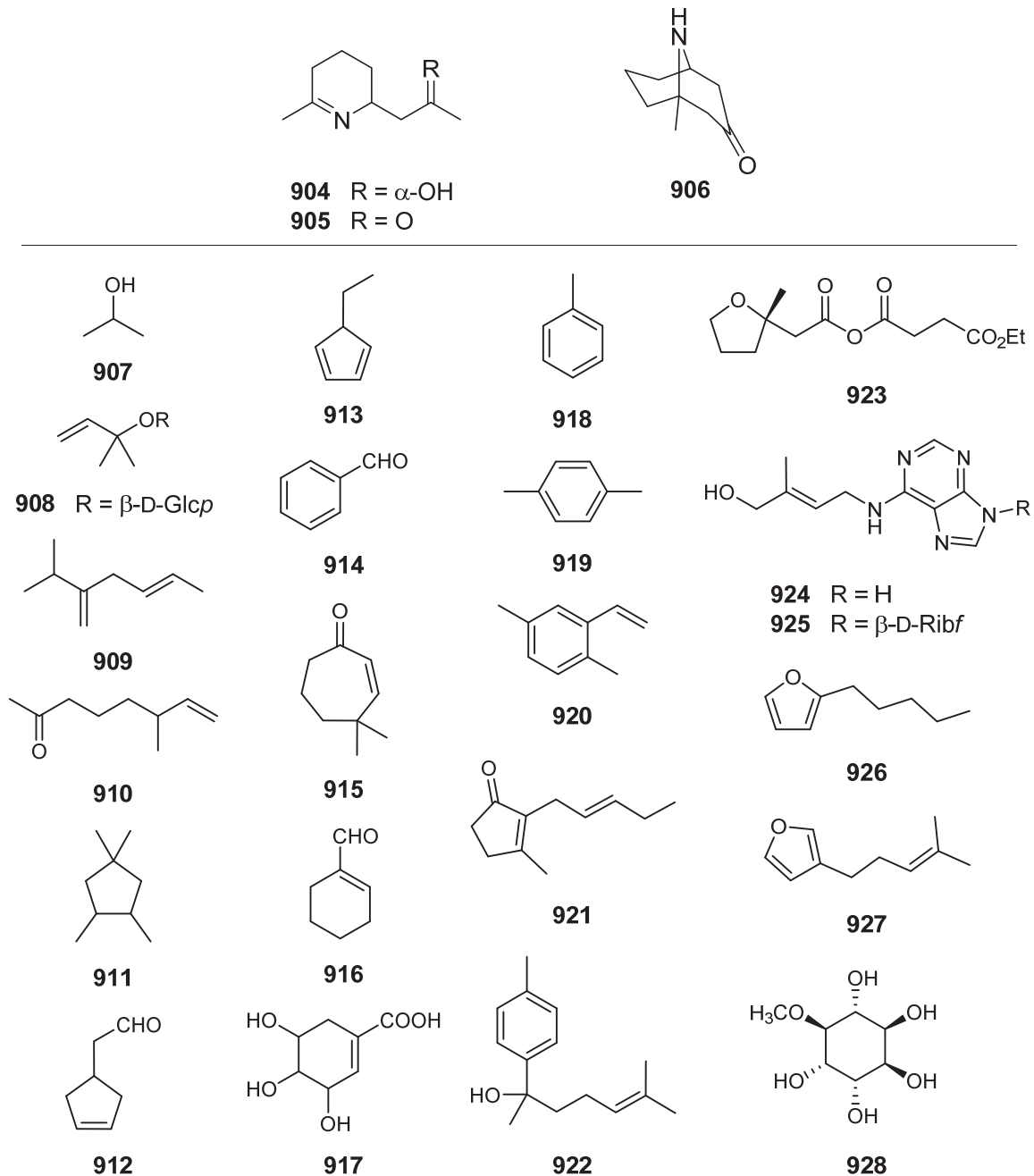


Figure 47 : Autres composés : alcaloïdes et autres

ANNEXE C : INFORMATIONS DÉTAILLÉES DES COMPOSÉS IDENTIFIÉS DANS LE GENRE *ABIES*Tableau 10 : Composés phénoliques identifiés dans le genre *Abies*

No.	Nom	Espèce ^a
stilbènes		
1	resvératrol	ge [66]
2	piceatannol	sp [103]
3	piceid	ge [66], ne [80]
4	astringine	ne [80]
5	monométhyle éther de pinosylvine	pd [83]
6	<i>cis</i> -piceid	ge [66]
7	monométhyle éther de dihydropinosylvine	pd [83]
chalcone		
8	4,4'-dihydroxychalcone	sp [103]
9	gymnogrammène	ch [57]
10	flavokawine	ge [66]
11	9,4'-dihydroxy-5,7-diméthoxy-8-méthylchalcone	ge [66]
12	okanine	pd [81]
13	coréopsine	pd [81]
14	mareine	pd [81]
15	4'- <i>O</i> -(α -L-arabinofuranoside-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranoside)-okanine	pd [81]
flavonoïde		
16	(-)-epiafzéléchine	ch [57], ge [65]
17	afzéléchine	ch [57], ge [65]
18	epicatéchine	ce [56], co [59], ko [70]
19	catéchine	ce [56], ch [57], co [59], ge [65], ne [80], pd [83]
20	gallocatéchine	pd [83]
21	(+)-cyanidan-3-ol-8-carboxylate d'éthyle	ge [65]
22	naringénine	ch [57], fo [63], ge [66]
23	(2 <i>S</i>)-hélichrysine	ne [80]
24	choerospondine	ch [57]
25	ériodictyol	ch [57], ge [66]
26	aromadendrine	ch [57], ge [66], ne [80]
27	taxifoline	am [54], ch [57], ge [66], ne [80]
28	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-(+)-glucodistylène	ne [80]
29	pallasiine	sp [103]
30	tsugafoline	ch [57], sp [103]
31	prunine	ch [57], ko [70], ne [80]

No.	Nom	Espèce ^a
32	naringine	ko [70]
33	7- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside de (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-dihydrokaempférol	ne [80]
34	7- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside de (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-catéchine	ne [80]
35	5,7-diméthoxy-4'-hydroxyflavanone	ge [66], ne [80]
36	3'-methyle éther d'hespéridine	pd [82]
37	flavanomarine	pd [81]
38	apigénine	pd [82], sp [103]
39	7- <i>O</i> -rutinoside d'apigénine	ne [80]
40	3,7- <i>O</i> -β-D-diglucopyranoside de quercétine	ne [80]
41	kaempférol	ch [57], fo [63], ge [66]
42	quercétine	ch [57], ge [66], pd [82]
43	astragaline	am [54], br [56], ce [56], ch [57], co [60], fo [63], gd [60], ge [66], hm [60], ho [60], ko [70], nu [60], ps [60], ve [60]
44	isoquercétine	am [54], br [56], ch [57], ge [66], ne [80]
45	3- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside d'isorhamnétine	am [54]
46	3- <i>O</i> -(6- <i>O</i> -acétyl-β-D-glucopyranoside) d'isorhamnétine	sp [103]
47	nicotiflorine	am [54], br [56], ne [80]
48	rutine	am [54], br [56], ce [56], ne [80]
49	3- <i>O</i> -β-D-galactopyranoside de kaempférol	am [54], br [56]
50	hypérine	am [54]
51	3- <i>O</i> -β-D-galactopyranoside d'isorhamnétine	am [54]
52	afzéline	am [54], ch [57], co [60], gd [60], ge [66], hm [60], ho [60], nu [60], ps [60], ve [60]
53	quercitrine	am [54], ne [80], pd [82]
54	3- <i>O</i> -α-L-rhamnopyranoside d'isorhamnétine	am [54], ce [56]
55	juglaline	sp [103]
56	myricétine	sp [103]
57	3- <i>O</i> -galactoside de myricétine	br [56], ce [56]
58	3- <i>O</i> -glucoside de myricétine	br [56], ce [56]
59	3- <i>O</i> -rutinoside de myricétine	ce [56]
60	3- <i>O</i> -β-glucopyranoside de laricitrine	am [54]

No.	Nom	Espèce ^a
61	3- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside de syringétine	ge [66]
62	3- <i>O</i> -β-D-galactopyranoside de myricétine 4'-méthyle éther	ne [80]
63	3,4'-diglucoside de myricétine	ne [80]
64	3- <i>O</i> -(6- <i>O</i> -acétyl-β-D-glucopyranoside) de syringétine	ge [66]
65	narcissine	am [54], ne [80]
66	3- <i>O</i> -rutinoside de syringétine	am [54]
67	3- <i>O</i> -β-galactopyranoside de laricitrine	am [54]
68	myricétrine	am [54], ce [56]
69	3- <i>O</i> -α-L-rhamnopyranoside de laricitrine	am [54]
70	diosmine	ne [80]
71	3- <i>O</i> -β-D-rutinoside de rhamnazine	ne [80]
72	2-hydroxynaringénine	sp [103]
73	(2 <i>R</i>)-hélichrysine	ne [80]
74	5,4'-dihydroxy-6-méthyl-7-méthoxyflavone	ch [57], ne [80]
75	7- <i>O</i> -β-D-glucoside de 2-hydroxynaringénine	ne [80]
76	7- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside de kaempférol	ch [57], ge [66], ne [80]
77	2- <i>O</i> -rhamnosylvitéxine	am [54], br [56], ce [56]
78	5-hydroxy-6-méthyl-7,4'-diméthoxyflavone	sp [103]
79	4',5-dihydroxy-3,7-diméthoxy-6-méthylflavone	ne [80], sp [103]
80	5-hydroxy-6-méthyl-7,4'-diméthoxyflavone-8- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside	sp [103]
81	3,7-diméthyle éther de 6,8-diméthylkaempférol	ne [80]
82	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-3,4'-dihydroxy-5,7-diméthoxy-6,8-diméthylflavone	ne [80]
83	matteucinol	ne [80]
84	3- <i>O</i> -(2,4- <i>O</i> -di- <i>E</i> -p-coumaroyl-α-L-rhamnopyranoside) de kaempférol	ch [57], ge [66], ne [80]
85	3- <i>O</i> -(2- <i>O</i> - <i>E</i> -p-coumaroyl-α-L-arabinopyranoside) de kaempférol	sp [103]
86	3- <i>O</i> -(6- <i>O</i> - <i>E</i> -p-coumaroyl-β-D-glucopyranoside) de kaempférol	ch [57], ge [66]
87	3- <i>O</i> -(6- <i>O</i> -caffeoyle-β-D-glucopyranoside) de kaempférol	ge [66]
88	3- <i>O</i> -(3- <i>O</i> - <i>E</i> -p-coumaroyl-β-D-glucopyranoside) de kaempférol	ch [57], sp [103]
89	3- <i>O</i> -(3,6- <i>O</i> -di- <i>E</i> -p-coumaroyl-β-D-glucopyranoside) de kaempférol	ch [57], ge [66], sp [103]
90	sténopalustroside D	ge [66]
91	sténopalustroside C	ge [66]
92	sténopalustroside A	ge [66]
93	abiésinol E	ch [57], ge [66], sa [96]
94	abiésinol A	ge [66], sa [96]
95	abiésinol C	sa [96]

No.	Nom	Espèce ^a
96	abiésinol G	sa [96]
97	abiésinol F	sa [96]
98	abiésinol B	sa [96]
99	abiésinol D	sa [96]
100	abiésinol H	sa [96]
101	3,2'-épi-larixinol	ch [57]
102	3-épi-larixinol	ch [57]
103	abiésanol B	ge [66]
104	abiésanol A	ge [65]
105	abiésine	we [107]
106	prodelphynidine B4	sp [104]
lignane		
107	sécoisolaricirésinol	ho [67], ko [70], mr [74], ps [84]
108	mésosécoisolaricirésinol	ps [84]
109	di- <i>p</i> -coumarate de sécoisolaricirésinol	sa [86]
110	(-)-isolaricirésinol	fo [63], ge [66], mr [74], ps [85], sa [87], sp [103]
111	(+)-isolaricirésinol	ko [70], ne [80]
112	schizandriside	sp [103]
113	9'-fêrulate de (+)-isolaricirésinol	ne [80]
114	todolactol B	mi [73], sa [89]
115	todolactol C	ge [66], ko [68], sa [90]
116	todolactol D	sa [90]
117	α -conidendrine	am [53], ho [67], mi [73], sa [87]
118	liovil	ne [75], si [99]
119	3,4-divanillyl-tétrahydrofurane	ne [75]
120	laricirésinol	ge [66], mr [74], ne [77], ps [85], sa [87], si [77]
121	(7 <i>R</i>)-7'-hydroxylaricirésinol	mr [74], ps [85]
122	(7 <i>S</i>)-7'-hydroxylaricirésinol	mi [73], mr [74], ps [85], sa [87]
123	tanégool	ho [67]
124	7'-oxolaricirésinol	mi [73], sa [87]
125	(9 <i>R</i>)-9'-hydroxylaricirésinol	mr [74], ps [85]
126	4,4'-dihydroxy-3,3'-diméthoxy-9-vanilloxyloxy-7,9'- époxy-lignane	ne [78], si [78]
127	9-(<i>p</i> -coumaroyl)-laricirésinol	mr [74], ne [77], ps [85], sa [86], si [77]
128	9-(<i>p</i> -fêruloyl)-laricirésinol	ne [77], sa [86], si [77]
129	daphnéligine	ge [66], sp [103]

No.	Nom	Espèce ^a
130	(-)-massonirésinol	ne [80], sp [103]
131	9-coumaroyloxy-4,4',8'-trihydroxy-3,3'-diméthoxy-7,9'-époxy lignane	ne [78], si [78]
132	9-féuloyloxy-4,4',8'-trihydroxy-2,3'-diméthoxy-7,9'-époxy lignane	ne [78], si [78]
133	nortrachélogénine	ge [66]
134	épinortrachélogénine	ge [66]
135	(+)-épipinorésinol	sa [91]
136	prinsépiol	ge [66]
137	(8 <i>R</i> ,8' <i>R</i>)-4,4',9-trihydroxy-3,3'-diméthoxy-9,9'-époxy lignane	ps [85]
138	(7' <i>S</i>)-todolactol A	mi [73], ps [85], sa [91]
139	koréanol	ko [68]
140	holophyllol C	ho [67]
141	holophyllol A	ho [67]
142	holophyllol B	ho [67]
143	pseudolarkaemine A	ho [67]
144	(-)- α -intermédiaireol	ko [68]
145	mataïrésinol	am [53], ge [66], ho [67], mi [73], mr [74], ne [75], pd [83], ps [84]
146	hydroxymataïrésinol	am [53], mi [73], ne [75]
147	5-hydroxytrachélogénine	ne [80]
148	4,4'-dihydroxy-7-(4''-hydroxybenzoyloxy)-3,3'-diméthoxy-9,9'-olide	ne [78], si [78]
149	4,4'-dihydroxy-3,3'-diméthoxy-7-vanilloxyloxy lignan-9,9'-olide	ne [78], si [78]
150	α - <i>p</i> -coumarate de todolactol A	mi [73]
151	kétomataïrésinol	mi [73]
152	(+)-pinorésinol	fo [63], ge [66], ko [68], mr [74], ne [75], pd [83], sa [87], sp [103]
153	8-hydroxypinorésinol	ne [80]
154	4- <i>O</i> - β -D-glucoside de (+)-pinorésinol	ne [80]
155	(+)-médiorésinol	ge [66]
156	(+)-syringarésinol	ge [66]
157	3',4,9,9'-tétrahydroxy-3-méthoxy-8- <i>O</i> -4'-néolignane	sp [103]
158	(thréo)-4,4',7,9,9'-pentahydroxy-3-méthoxy-8- <i>O</i> -4'-néolignane	ne [80]
159	4,9,9'-trihydroxy-3,3'-diméthoxy-8- <i>O</i> -4'-néolignane	ge [66], ne [80], sp [103]

No.	Nom	Espèce ^a
160	(thréo)-4,3',7,9,9'-pentahydroxy-3-méthoxy-8- <i>O</i> -4'-néolignane	sp [103]
161	(érythro)-4,7,9,9'-tétrahydroxy-3,3'-diméthoxy-8- <i>O</i> -4'-néolignane	ne [80], sp [103]
162	4- <i>O</i> -β-D-xyloside de ligraminol E	ho [67]
163	4- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside de (7 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-érythro-7,9,9'-trihydroxy-3,3'-diméthoxy-8- <i>O</i> -4'-néolignane	ne [80]
164	1-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-2-[4-(formylvinyl)-2-méthoxyphénoxy]-propane-1,3-diol	sa [87]
165	icaraside E5	sp [103]
166	cédrusine	ho [67], ne [80], sp [103]
167	cédrusinine	ne [80]
168	alcool de (7' <i>S</i> ,8' <i>R</i>)-dihydrodéhydrodiconiféryle	fo [63], mr [74], ne [80], ps [84], sp [103]
169	(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-2,3-dihydro-2-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-3-(p-coumaroyloxyméthyl)-5-ω-hydroxypropyl-7-hydroxybenzofurane	sa [92]
170	massonianoside B	ne [80]
171	4,9,9'-trihydroxy-3,5'-diméthoxy-4',7-époxy-3',8-néolign-7-ène	sa [96]
172	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-2,3-dihydro-2-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-3-hydroxyméthyl-5-(2-formylvinyl)-7-hydroxybenzofurane	sa [92], sq [105]
173	4- <i>O</i> -α-L-rhamnoside de (7 <i>R</i> ,8 <i>S</i>)-cédrosinine	ho [67]
174	isomassonianoside B	ho [67]
175	icaraside E4	ho [67]
176	4- <i>O</i> -(3- <i>O</i> -méthyl-α-L-rhamnoside) de (7 <i>R</i> ,8 <i>S</i>)-cédrosine	ho [67]
177	junipérigiside	ho [67]
178	4'- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside de (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-2,3-dihydro-7-hydroxy-2-(4'-hydroxy-3'-méthoxyphényl)-3-hydroxyméthyl-5-benzofuranpropanol	ho [67]
179	4- <i>O</i> -β-D-glucopyranoside d'alcool de 7 <i>R</i> ,8 <i>S</i> -dihydrodéhydrodiconiféryle	ho [67]
180	(7 <i>S</i> ,8 <i>S</i>)-3',7-époxy-3-méthoxy-8,4'-oxynéolignane-4,9,9'-triol	ne [80]
181	9'- <i>O</i> -β-D-glucoside de (7 <i>S</i> ,8 <i>S</i>)-3',7-époxy-3-méthoxy-8,4'-oxynéolignane-4,9-diol	ne [80]
182	sesquipinsapol B	mr [74], ps [84]
183	abiésol A	sa [93]
184	abiésol B1	sa [93]
185	abiésol B2	sa [93]
186	hédýotol A	ge [66], ne [80]
187	sesquimarocanol B	mr [74]
188	sesquimarocanol A	mr [74]

No.	Nom	Espèce ^a
189	sesquipsapol C	ps [85]
190	sesquipsapol A	ps [84]
191	pinobatul	ne [80]
autre		
192	phénol	si [102]
193	<i>p</i> -crésol	si [102]
194	<i>tert</i> -butylphénol	si [102]
195	hydroquinone	ge [66], si [102]
196	<i>m</i> -crésol	si [102]
197	3,5-xylénol	si [102]
198	3,4,5-triméthylphénol	si [102]
199	résorcinol	si [102]
200	4-éthylrésorcinol	si [102]
201	<i>o</i> -crésol	ge [66], si [102]
202	2,6-xylénol	si [102]
203	2,5- xylénol	si [102]
204	2,4- xylénol	si [102]
205	mésitol	si [102]
206	2,3- xylénol	si [102]
207	pentaméthylphénol	si [102]
208	2-méthylrésorcinol	si [102]
209	β -orcinol	si [102]
210	pyrocatéchol	si [102]
211	guaïacol	si [102]
212	4-méthylacétophénone	cc [58], sa [95]
213	4-hydroxyacétophénone	ne [80], sp [103]
214	4-méthoxyacétophénone	ne [80]
215	4-acétylcatéchol	sp [103]
216	apocynine	ne [80], sp [103]
217	<i>p</i> -hydroxybenzaldehyde	ge [66], ne [80]
218	vanilline	ne [75], sa [88], si [98]
219	véatraldéhyde	mr [74], si [98]
220	acide benzoïque	ge [66], ne [80], sp [103]
221	acide 4-hydroxybenzoïque	si [76]
222	β -D-glucopyranoside de l'acide 4-hydroxybenzoïque	ne [76], si [76]
223	acide protocatéchuïque	pd [83], si [101]
224	acide gallique	pd [83]
225	acide 4- <i>O</i> - β -glucopyranosylprotocatéchuïque	ne [76], si [76]
226	acide vanillique	ch [57], fo [63], ge [66], mi [73], mr [74], ne [80], si [76]
227	acide véatrique	mr [74]
228	4- <i>O</i> - β -glucopyranoside de l'acide vanillique	ne [76], si [76]
229	acide 2-pyrocatéchuïque	ge [66]

No.	Nom	Espèce ^a
230	méthylparaben	ge [66]
231	protocatéchuate de méthyle	ge [66]
232	protocatéchuate d'éthyle	ge [66]
233	benzoate de β -D-glucopyranosyle	sp [103]
234	1- <i>O</i> -(4'-hydroxybenzoyl)- β -glucose	si [101]
235	1- <i>O</i> -protocatéchuoyl- β -glucose	si [101]
236	β -D-glucopyranoside de vanilloyle	si [101]
237	guaïacol de vinyle	et [61]
238	acide 2- <i>O</i> -(4-hydroxybenzoyl)-2,4,6-trihydroxyphénylacétique	ch [57], ge [66]
239	2- <i>O</i> -(4-hydroxybenzoyl)-2,4,6-trihydroxyphénylacétate de méthyle	ge [66]
240	benzoate de benzyle	cc [58]
241	salicylate de benzyle	cc [58]
242	phthalate de diethylhexyle	ge [66]
243	maltol	ba [55], fr [64], ge [66], ko [69], mi [72], si [100]
244	β -D-glucopyranoside de maltol	ch [57], ge [66], ko [70]
245	β -naphthol	si [102]
246	α -naphthol	si [102]
247	alcool de dihydroconiféryle	ge [66], sp [103]
248	<i>p</i> -hydroxyphénylacétone	ge [66]
249	guaïacylpropan-1-ol	ge [66]
250	7- <i>O</i> -éthylguaïacylglycérol	ne [80]
251	α -guaïacylpropanone	ge [66]
252	ω -hydroxypropioguaïacone	ge [66], mr [74], ne [80]
253	cinnamate d'éthyle	ne [79]
254	sachaliside 1	ch [57]
255	acide <i>trans-p</i> -coumarique	co [60], gd [60], ge [66], hm [60], ho [60], nu [60], pd [83], ps [60], sa [88], si [76], sp [103], ve [60]
256	β -glucose de 1- <i>O</i> -coumaroyl	ne [80], si [101]
257	anéthole	al [52], et [61], ve [106]
258	4- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside de l'acide <i>trans-p</i> -coumarique	ne [76], si [76]
259	acide caféique	sp [103]
260	isoférulaldéhyde	ge [66]
261	coniféraldéhyde	sa [94]

No.	Nom	Espèce ^a
262	acide férulique	co [60], gd [60], ge [66], hm [60], ho [60], ko [70], ne [80], nu [60], ps [60], si [101], sp [103], ve [60]
263	férulate de palmityle	sp [103]
264	férulate de docosanyle	fi [62]
265	férulate de tricosanyle	fi [62]
266	férulate de tétracosanyle	fi [62]
267	férulate de pentacosanyle	fi [62]
268	férulate d'hexacosanyle	fi [62], ko [69]
269	β -D-glucoside de féruloyle	si [101]
270	3,4-diméthoxycinnamaldéhyde	mr [74]
271	férulate de <i>trans</i> -docosanyle	sp [104]
272	estragol	mi [71]
273	méthyleugénol	et [61]
274	acide <i>cis</i> -hexadécylférutique	sp [103]
275	p-butylphénol	si [102]
276	rhododendrol	fo [63], ge [66], ko [70], ne [80]
277	épirhododendrine	ge [66], ne [80]
278	rhododendrine	fo [63], ge [66], ne [80], we [335]
279	frambinone	fo [63], ge [66], ko [70], ne [80], sp [103]
280	betuloside de methyle	we [335]
281	zingerone	ge [66]
282	4-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)butan-2-ol	ne [80]
283	7-hydroxycoumarine	ne [80]

^a Le code des espèce est détaillé tableau 2 (p. 42).

Tableau 11 : Monoterpènes identifiés dans le genre *Abies*

No.	Nom	Espèce ^a
acyclique		
284	citronellol	al [114], am [117], ba [117], bt [117], co [117], fr [117], gd [117], la [117], ma [117], mi [71], ne [148], pr [117], sa [95], si [155], sq [105]
285	acétate de citronellyle	al [52], ba [117], bt [117], cc [58], co [117],

No.	Nom	Espèce ^a
		gd [117], la [117], ma [117], ne [146], pr [117], xa [156]
286	citronellal	al [114], ba [119], ne [79]
287	géraniol	al [114], am [117], ba [117], bt [117], co [117], gd [117], gr [133], la [117], ma [117], ne [146], pr [117], se [152], si [155], sq [105]
288	acetate de géranyle	al [112], am [117], ba [117], bm [123], br [112], bt [117], cc [123], ce [112], ci [123], co [117], et [123], fr [117], gd [117], ko [139], la [117], ma [117], mi [71], ne [146], no [123], pr [117], sa [106], se [152], si [155], ve [106], xa [156]
289	géranial	sq [105]
290	géranate de méthyl	al [114], sq [105]
291	isobutyrate de géranyle	ne [147]
292	nérol	bt [117], co [117], fr [117], gd [117], la [117], pr [117], sq [105]
293	acétate de néryle	al [112], br [112], bt [117], ce [112], ci [58], co [117], fr [117], la [117], ma [117], pr [117], xa [156]
295	linalool	al [112], ba [119], bm [123], br [112], cc [58], ce [112], ch [125], ci [58], fi [129], hm [129], ko [137], mi [71], ne [146], sa [106], sq [105], ve [106], xa [156]
296	acétate de linalyle	al [112], bm [123], br [112], cc [58], ce [112],

No.	Nom	Espèce ^a
		ci [123], et [123], my [145], no [123], sa [150]
297	(<i>E</i>)- β -ocimène	al [114], co [127], ne [148]
298	(<i>Z</i>)- β -ocimène	al [112], br [112], ce [112], co [127], ne [148]
299	myrcène	al [109], am [109], ba [109] , bm [123], br [112], bt [109], cc [58], ce [112], ci [58], co [109], et [123], fi [128], fo [109], fr [109], gd [109], gr [133], hm [129], ho [135], ko [136], la [109], ma [109], mi [109], mr [143], my [144], ne [144], no [149], pr [109], ps [109], sa [144], se [152], sq [105], ve [106], xa [156]
300	alcool d'artémisia	sa [95]
	bornane	
301	bornéol	al [113], am [117], ba [117] , bm [123], bt [117], cc [123], ci [123], co [117], et [61], fi [129], fr [117], gd [117], gr [133], hm [129], ko [136], la [117], ma [117], my [145], ne [146], no [123], pr [117], sa [106], se [152], si [154], sq [105], ve [106], xa [156]
302	isobornéol	mi [71], si [154], xa [156]
303	acétate de bornyle	al [113], am [117], ba [117] , bm [123], bt [117], cc [58], ci [58], co [117], et [123], fi [128], fr [117], gd [117], gr [133], hm [129], ho [135],

No.	Nom	Espèce ^a
		ko [136], la [117], ma [117], mi [71], my [145], ne [146], no [123], pr [117], ps [116], sa [106], se [152], si [153], sq [105], ve [106], xa [156]
304	acetate d'isobornyle	ko [137]
305	camphor	al [113], ba [9], co [127], fr [131], ko [136], mi [71], ne [148], sq [105], xa [156]
306	camphénal	ko [139]
307	α -fenchène	ba [121], cc [58], gr [133], sa [95]
308	2-méthylènebornane	et [61]
309	tricyclène	al [110], ba [121], bm [123], cc [58], ci [123], co [109], et [61], fi [106], fr [122], gd [109], hm [129], ho [135], ko [136], ma [142], mi [109], my [145], ne [147], no [123], sa [109], sq [105], ve [109], xa [156]
310	α -campholénal	al [113], bm [123], cc [123], ci [123], et [123], no [123], sa [95], ve [106], xa [156]
	carane	
311	Δ^3 -carène	al [109], am [109], ba [109], bm [123], bt [109], cc [58], ci [123], co [109], et [61], fi [129], fo [109], fr [109], gd [109], ho [135], ko [136], la [109], ma [109], mi [109], my [144], ne [144], no [149], pa [115], pr [109], ps [109], sa [144], se [152],

No.	Nom	Espèce ^a
		si [109], sq [105], ve [109], xa [156]
312	Δ^3 -carén-2-ol-5-one	ge [66]
	fenchane	
313	α -fenchol	al [112], bm [123], br [112], cc [123], ce [112], ci [123], et [61], ko [136], mi [71], ne [146], no [123], si [154], sq [105], xa [156]
314	acétate de fenchyle	al [112], br [112], ce [112], fi [129], hm [129], ho [135], ko [136], my [145], ne [146], sa [106], ve [106], xa [156]
315	fenchone	ba [55], co [127], fr [131], ne [79], sa [95], si [154], sq [105]
316	isofenchone	si [154]
317	norbornène	al [52]
318	camphène	al [109], am [109], ba [109], bm [123], br [112], bt [109], cc [58], ce [112], ci [123], co [109], et [61], fi [128], fo [109], fr [109], gd [109], hm [129], ho [135], ko [136], la [109], ma [109], mi [109], my [144], ne [144], no [149], pa [115], pr [109], ps [109], sa [109], se [152], si [109], sq [105], ve [109], xa [156]
319	2-norbornanol	ko [140]
320	hydrate de camphène	al [114], bm [123], et [61], ne [148], sa [95], xa [156]
321	2,3-endo-diméthyl-3-hydroxyl-10-norbornanoate de β -D-glucopyranosyle	ge [66]
322	cyclofenchène	al [52], ne [147]

No.	Nom	Espèce ^a
323	(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-2,5-diméthyl-3-oxatricyclo[4.2.1.0 ^{2,5}]nonan-4-one	bi [336]
324	santène	al [110], ba [121], bm [123], cc [123], ci [123], et [61], fi [106], gd [109], hm [129], ho [135], ko [136], la [126], mi [109], my [145], ne [147], no [123], sa [106], si [109], ve [129], xa [156]
menthane		
325	p-menth-1-ène	sa [95]
326	α -terpinéol	al [112], am [117], ba [119], bm [123], br [112], bt [117], cc [58], ce [112], ci [58], co [117], et [61], fi [128], gr [133], hm [129], ho [135], ko [136], la [117], ma [117], mi [129], ne [146], no [123], pr [117], sa [106], si [155], sq [105], ve [106], xa [156]
327	acétate de terpinyle	al [112], bm [123], br [112], cc [123], ce [112], ci [58], et [123], gr [133], ho [135], ko [136], my [145], ne [146], no [123], sa [106], si [154], xa [156]
328	terpinén-4-ol	al [112], ba [121], bm [123], br [112], cc [58], ce [112], ci [123], co [127], et [61], gr [133], ko [137], mi [71], ne [146], no [123], sa [106], si [155], sq [105], ve [106], xa [156]
329	acétate de 4-terpinényle	ba [121], ci [58]
330	<i>trans</i> -pipéritol	ko [137], sa [95]

No.	Nom	Espèce ^a
331	pipéritone	ba [119], co [127], fr [122], sa [95]
332	acétate de menthyle	al [52]
333	acide oleuropéique	ch [125]
334	<i>p</i> -menth-1-én-9-al	mi [71], sa [106], ve [106]
335	epoxyde de α -phellandrène	ne [79]
336	<i>cis</i> -menth-2-én-1-ol	mi [71], ne [148], sa [95], ve [106]
337	<i>trans</i> -menth-2-én-1-ol	mi [71], sa [95]
338	cryptone	al [113], cc [58], sa [106], ve [106]
339	pulégone	ko [137]
340	γ -terpinéol	al [52], si [154]
341	isopulégol	sa [95]
342	β -terpinéol	al [52], ko [136], ne [148], si [154]
343	oxyde de limonène	ko [140], sa [95]
344	β -phellandrène	al [109], am [109], ba [109], bm [123], bt [109], cc [58], ci [58], co [109], et [123], fi [128], fo [109], fr [109], gd [109], gr [133], hm [129], ko [136], la [109], ma [109], mi [109], mr [143], my [144], ne [144], no [149], pa [115], pr [109], ps [109], sa [109], se [152], si [109], ve [109], xa [156]
345	β -phellandrén-8-ol	sa [95]
346	β -terpinène	al [52]
347	pseudolimonène	sa [95]
348	α -terpinène	al [112], ba [121], bm [123], br [112], cc [123], ce [112], ci [123], co [127], et [123], ho [135], ko [137], mi [71], ne [148], no [123], sa [106], ve [106], xa [156]
349	γ -terpinène	al [112], ba [121], bm [123], br [112],

No.	Nom	Espèce ^a
		cc [123], ce [112], ci [123], co [127], et [61], fi [106], fr [122], gr [133], ko [136], my [144], ne [144], no [123], sa [144], se [152], sq [105], ve [106], xa [156]
350	α -phellandrène	al [112], am [109], ba [121] , bm [123], br [112], bt [109], cc [123], ce [112], ci [123], co [109], et [123], gd [134], ko [137], ma [109], ne [148], no [123], pr [109], sa [106], sq [105], ve [106], xa [156]
351	α -phellandrén-8-ol	bm [124], sa [95]
352	terpinolène	al [112], am [109], ba [109] , bm [123], br [112], cc [123], ce [112], ci [58], co [109], et [123], fi [106], fo [109], fr [109], gd [117], gr [133], hm [129], ko [136], la [109], ma [109], mi [109], my [144], ne [144], no [123], pr [109], sa [144], si [109], sq [105], ve [106], xa [156]
353	pipériténone	cc [58]
354	limonène	al [109], am [109], ba [109] , bm [123], br [112], bt [109], cc [58], ce [112], ci [58], co [109], et [61], fi [128], fo [109], fr [109], gd [109], gr [133], hm [129], ho [135], ko [136], la [109], ma [109], mi [109], mr [143], my [144], ne [144],

No.	Nom	Espèce ^a
		no [149], pr [109], ps [109], sa [109], se [152], si [154], sq [105], ve [109], xa [156]
355	<i>trans</i> -carvéol	al [114], et [61], sa [95], sq [105]
356	carvone	al [114], co [127], ko [137], sa [95], sq [105]
357	<i>p</i> -cymène	al [113], ba [121], bm [123], cc [58], ci [58], co [127], et [123], fi [128], fr [122], gr [133], hm [129], ko [137], mi [129], my [144], ne [144], no [123], sa [144], sq [105], ve [106]
358	<i>p</i> -cymén-8-ol	cc [58], et [61], mi [71], sa [150]
359	thymol	ko [137]
360	méthyle éther de thymol	al [112], am [117], ba [117], br [112], bt [117], ce [112], co [117], fr [117], gd [117], la [117], ma [117], ne [146], pr [117], si [155]
361	carvacrol	et [61]
362	cuminol	et [61], sa [95]
363	3-méthoxy-4-isopropyl-1-benzaldéhyde	ba [119]
364	<i>p</i> -mentha-1,3,8-triène	sa [95]
365	<i>m</i> -cymén-8-ol	cc [58]
366	<i>o</i> -cymène	cc [58], sa [95]
367	cuménène	al [114], et [61], sa [95]
368	1,8-cinéole	al [52]
369	2,3-déhydro-1,8-cinéole	sa [95]
	pinane	
370	α -pinène	al [109], am [109], ba [109], bm [123], br [112], bt [109], cc [58], ce [112], ci [58], co [109], et [61], fi [128], fo [109], fr [109], gd [109], gr [133], hm [129], ho [135], ko [136],

No.	Nom	Espèce ^a
		la [109], ma [109], mi [109], mr [143], my [144], ne [144], no [149], pa [115], pr [109], ps [109], sa [109], se [152], si [109], sq [105], ve [109], xa [156]
371	<i>cis</i> -chrysanthénol	cc [58]
372	myrténol	al [113], cc [58], sa [95]
373	myrténal	ba [55], cc [58], et [61], ko [137], sa [95]
374	verbénol	bm [123], sa [95]
375	verbénone	ko [137]
376	10-hydroxyverbénone	ge [66]
377	β -pinène	al [109], am [109], ba [109], bm [123], br [112], bt [109], cc [58], ce [112], ci [58], co [109], et [123], fi [128], fo [109], fr [109], gd [109], gr [133], hm [129], ho [135], ko [136], la [109], ma [109], mi [109], mr [143], my [144], ne [144], no [149], pa [115], pr [109], ps [109], sa [109], se [152], si [109], sq [105], ve [109], xa [156]
378	<i>trans</i> -pinocarvéol	al [113], ba [55], bm [123], cc [58], ci [123], et [123], ko [137], no [123], sa [95]
379	<i>cis</i> -pinocarvéol	sa [95]
380	pinocarvone	al [113], cc [58], sa [95]
381	myrtanol	sa [95]
382	acétate de myrtanyle	al [114]
383	pinocamphone	sa [95]
384	isopinocamphone	sa [95]
385	verbenène	et [61]
386	oxyde de α -pinène	cc [58]
387	5 α -hydroxy-2-pinène-10-butanedioate d'éthyle	ge [66]
	thujane	
388	thujol	cc [58]

No.	Nom	Espèce ^a
389	α -thujone	ba [55], ne [79]
390	β -thujone	ko [137], ne [79]
391	hydrate de sabinène	gr [133], ne [146], si [155]
392	hydrate de <i>trans</i> -sabinène	ko [137], sa [95]
393	hydrate de <i>cis</i> -sabinène	ko [137], ne [79]
394	sabinène	al [111], am [117], ba [121], bm [123], bt [109], cc [58], ci [123], et [123], fo [109], fr [109], gd [134], ho [116], ko [137], la [109], ma [142], my [145], ne [79], no [123], pr [109], ps [116], sa [150], sq [105], ve [106], xa [156]
395	acétate de sabinyle	ne [79]
396	α -thujène	al [112], ba [121], bm [123], br [112], cc [123], ce [112], ci [123], et [123], ko [137], ma [142], mi [71], my [144], ne [144], no [123], sa [144], sq [105], xa [156]
397	thuja-2,4(10)-diène	sa [95]

^a Le code des espèce est détaillé tableau 2 (p. 42).

Tableau 12 : Sesquiterpènes identifiés dans le genre *Abies*

No.	Nom	Espèce ^a
	acyclique	
398	(<i>E</i>)- β -farnésène	al [158], am [117], ba [117], bt [117], cc [58], co [117], fr [117], gd [117], ko [137], la [117], ma [117], ne [147], no [149], pr [117]
399	(<i>E,E</i>)- α - farnésène	sa [150]
400	(<i>Z</i>)- β - farnésène	al [113]
401	(<i>Z,E</i>)- α - farnésène	al [114]
402	<i>cis,trans</i> -farnésol	ko [137]

No.	Nom	Espèce ^a
403	(+)-nérolidol	al [52], gr [133], ko [139], my [145], ne [146], sa [106], se [152], si [155], sq [105], ve [106]
404	(<i>E,E</i>)-farnésol	cc [58], fi [128], ve [106]
405	(<i>E,E</i>)-farnésal	fi [128]
406	acétate de (<i>E,E</i>)-farnésyle	cc [58], fi [128], sa [95]
	aristolane	
407	aristolène	al [112], br [112], ce [112]
408	calarène	et [61]
	bisabolane	
409	β -bisabolène	al [158], am [117], ba [117], bm [123], bt [117], cc [58], ci [123], co [117], et [123], fr [117], gd [117], ko [136], la [117], ma [117], mi [129], my [145], ne [146], no [149], pr [117], sa [145], se [152], si [154], sq [105]
410	α -bisabolol	ge [66], gr [133], ko [139], ne [146], si [155]
411	α -épi-bisabolol	ko [136]
412	β -bisabolol	ko [136], se [152]
413	β -sesquiphellandrène	ko [137]
414	α -bisabolène	ba [119], gr [133], ko [139], sa [95], se [152]
415	α -zingibérène	ko [137]
416	(<i>E</i>)-atlantone	ba [162], bi [162], la [166], sa [95]
417	(<i>Z</i>)-atlantone	ba [162], bi [162], la [162]
418	α -curcumène	gr [133], ko [137], ne [146]
419	acide 3'-isodihydroépitodomatuique	sa [94]
420	acide 3'-dihydroépitodomatuique	ps [171]
421	acide épitodomatuique	mr [169], ps [171], sa [94]
422	acide <i>trans</i> -tétrahydrotodomatuique	sa [88]
423	acide <i>cis</i> -tétrahydrotodomatuique	sa [88]
424	acide <i>cis</i> -dihydroépitodomatuique	ps [171]
425	isojuvabiol	al [110], ba [161], sa [150]
426	juvabiol	al [110], ba [161], la [166], sa [150]

No.	Nom	Espèce ^a
427	juvabione	al [110], ba [159], bi [162], la [166], sa [88]
428	isoépijuvabiol	sa [94]
429	épijuvabiol	bi [162], la [166], ps [172], sa [94]
430	épijuvabione	la [162], mr [169], ps [172], sa [173]
431	2'-hydroxyjuvabione	sa [175]
432	5-hydroxyépijuvabione	sa [94]
433	oxojuvabione	sa [173]
434	oxoépijuvabione	sa [173]
435	1-hydroxyjuvabione	sa [175]
436	1' <i>E</i> -déhydrojuvabi-3'-ol	la [162]
437	1' <i>E</i> -déhydrojuvabione	bi [162], la [166]
438	2' <i>E</i> -déhydrojuvabi-1'-ol	bi [162], la [166]
439	1' <i>Z</i> -déhydrojuvabione	bi [162], la [162]
440	3'-déhydrojuvabi-5'-ol	ba [162], sa [150]
441	3'-déhydroépijuvabi-5'-ol	sa [94]
442	acide 4'-déhydroépitodomatuique	mr [169], ps [171], sa [94]
443	4'-déhydro-oxoépijuvabione	sa [94]
444	4'-déhydro-oxojuvabione	sa [94]
445	7-déhydroxy-5 α -hydroxy-9-oxo- α -bisabolol	ge [66]
446	7-déhydroxy-5,9-dioxo- α -bisabolol	ge [66]
447	4'-déhydroépéjuvabione	al [110], la [162], mr [169], ps [172], sa [173]
448	4'-déhydrojuvabione	al [110], ba [160], ho [165], la [162], sa [150]
449	ar-dihydroxyépijuvabione	sa [94]
450	lasiocarpénone	ba [162], bi [162], la [166]
451	lasiocarpénol	la [162]
452	abiésesquine B	ho [165]
453	abiésesquine A	ho [165]
454	épijuvabiénol éther	sa [94]
455	abiéspiroside A	de [164]
456	cycloabiésesquine A	de [163]
457	α -chamigrène	ko [139]
cadinane		
458	(-)- α -cadinol	al [114], fi [106], ko [137], mr [143], ne [148], sa [95]
459	τ -cadinol	al [114], bm [123], cc [123], ci [123], et [123], ko [137], mr [143], no [123]

No.	Nom	Espèce ^a
460	δ -cadinol	cc [58], ko [137], ne [148], sa [150]
461	τ -muurolol	al [114], ne [148], sa [95]
462	1,10- <i>épi</i> -cubénol	sa [95]
463	α -amorphène	ne [148]
464	α -cadinène	ko [137], mr [143], ne [148]
465	α -muurolène	al [113], am [117], ba [117], bm [123], bt [117], cc [123], ci [123], co [117], et [61], fi [129], fr [117], gd [117], gr [133], la [117], ma [117], mr [168], ne [148], no [149], pr [117], ps [172], sq [105]
466	<i>cis</i> -muurol-5-én-4-ol	sa [95]
467	cadinadiène	mr [143]
468	<i>épi</i> -bicyclosesquiphellandrène	ne [79]
469	β -cadinène	al [52]
470	γ -cadinène	al [112], am [117], ba [117], bm [123], br [112], bt [117], cc [123], ce [112], ci [123], co [117], et [123], fi [128], fr [117], gd [117], la [117], ma [117], mr [168], ne [146], no [149], pr [117], ps [172]
471	γ -muurolène	al [113], am [117], ba [117], bm [123], bt [117], cc [123], ci [123], co [117], et [123], fi [128], fr [117], gd [117], gr [133], ko [136], la [117], ma [117], mr [168], ne [146], no [149], pr [117], sq [105]
472	δ -cadinène	al [112], am [117], ba [117], bm [123], br [112], bt [117], cc [123], ce [112], ci [58], co [117], et [123], fi [106],

No.	Nom	Espèce ^a
		fr [117], gd [117], gr [133], hm [129], ko [136], la [117], ma [117], mr [143], my [145], ne [146], no [149], pr [117], ps [172], sa [150], se [152], ve [106]
473	ϵ -muurolène	si [154]
474	<i>trans</i> -calaménène	al [114], sa [95]
475	<i>cis</i> -calaménène	et [61], mr [168], ps [172]
476	α -calacorène	et [61], mr [143]
477	β -calacorène	mr [143]
478	β -ylangène	ba [117], co [117], ma [117], pr [117]
479	β -copaène	al [52], am [117], ba [117], cc [123], ci [123], co [117], et [123], fr [117], gd [117], la [117], ma [117], no [123], pr [117]
480	α -ylangène	am [117], ba [117], bt [117], co [117], fr [117], gd [117], gr [133], ko [137], la [117], ma [117], ne [146], no [149], pr [117], se [152]
481	α -copaène	al [158], am [117], bm [123], cc [123], ci [123], co [117], et [61], fi [106], fr [117], gd [117], gr [133], ko [139], la [117], ma [117], mr [168], ne [146], no [149], pr [117], sa [95], se [152], sq [105], ve [106]
482	épi-cubébol	se [152]
483	cubébol	al [114], se [152]
484	β -cubébène	al [52], mr [143], ne [148], ps [172], sq [105]
485	α -cubébène	al [52], am [117], co [117], gd [117], la [117], ma [142],

No.	Nom	Espèce ^a
		mr [168], ne [148], pr [117], ps [172]
486	β -alaskène	se [152]
	caryophyllane	
487	2-épi- β -caryophyllène	al [158]
488	caryophylla-4(12),8(13)-dién-5 α -ol	cc [58], si [155]
489	oxyde d'isocaryophyllène	cc [58]
490	oxyde de caryophyllène	al [113], bm [123], cc [58], ci [58], et [123], ko [139], mr [143], my [145], ne [148], no [170], sa [145], ve [106]
491	β -caryophyllène	al [110], am [117], ba [117], bm [123], br [112], bt [117], cc [58], ce [112], ci [58], co [117], et [61], fi [128], fr [117], gd [117], gr [133], hm [129], ho [116], ko [136], la [117], ma [117], mi [71], mr [168], my [145], ne [146], no [149], pr [117], ps [116], sa [106], se [152], si [154], sq [105], ve [106]
492	caryophyll-5-én-2 β -ol	cc [58]
	cédrane	
493	cédrol	ne [146], sa [95], si [155]
494	α -funébrène	ko [137]
495	β -cedrène	al [114]
	érérophilane	
496	valencène	ko [136]
497	érérophilène	cc [58], ci [58]
	eudesmane	
498	éléamol	ko [137], ne [148]
499	acétate d'élémyle	ko [137]
500	δ -élémente	ba [119], ma [142], ne [148]
501	γ -élémente	al [112], br [112], ce [112], gr [133], ko [137], no [149]
502	β -élémente	al [114], am [117], ba [117], bt [117], co [117], et [61], fr [117],

No.	Nom	Espèce ^a
		gd [117], ko [136], la [117], ma [117], ne [79], pr [117]
503	α -élémente	ba [117], co [117], fr [117], gd [117], ko [140], la [117], ma [117], pr [117]
504	11-hydroxy-4 α -méthoxy-sélinane	fi [128]
505	α -eudesmol	fi [128], ko [137], ne [79]
506	β -sélinène	al [113], am [117], ba [117], bm [123], cc [123], ci [123], co [117], et [123], fi [128], fr [117], gd [117], gr [133], ko [136], la [117], ma [117], ne [146], no [123], pr [117], se [152]
507	β -eudesmol	al [112], br [112], ce [112], fi [128], gr [133], ko [137], ne [148], si [155]
508	γ -eudesmol	ko [139], ne [148]
509	(4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-selin-6-én-4-ol	al [157]
510	selin-11-én-4 α -ol	bm [123], cc [123], ci [123], et [123], no [123], sa [95]
511	4 α -méthoxy-selin-11-ène	fi [128]
512	intermédeol	bm [124], ko [136], no [170]
513	sélina-3,7(11)-diène	am [117], ba [117], co [117], fr [117], la [117], ma [117], pr [117]
514	α -sélinène	al [113], am [117], ba [117], co [117], fi [128], fr [117], gd [117], gr [133], ko [139], la [117], ma [117], ne [146], pr [117]
515	7-épi- α -sélinène	ko [136]
516	sélina-4,11-diène	ko [136]
517	sibirène	no [149]
518	γ -sélinène	ba [117], co [117], fi [128], fr [117], ko [139], la [117], ma [117], pr [117], sa [150]

No.	Nom	Espèce ^a
519	junipercamphor	ko [139]
520	δ -sélinène	ko [137], ne [148]
521	β -maaliène	al [52]
522	agarospirol	al [52]
germacrane		
523	bicyclogermacrène	my [145], sa [145]
524	germacrène A	my [145], sa [145]
525	germacrène B	ko [136], ne [148]
526	germacrène D	al [112], bm [123], br [112], cc [123], ce [112], ci [123], et [123], ko [137], mr [143], ne [148], no [123], ps [172]
527	salvial-4(14)-én-1-one	et [61]
guaïane		
528	γ -gurjunène	al [112], br [112], ce [112], ko [139]
529	α -guaïène	am [117], ba [117], bt [117], co [117], gd [117], ko [139], la [117], ma [117], pr [117]
530	guaïol	ko [137]
531	guaïazulène	ma [117], pr [117]
532	guaïa-10(14),11-diène	ko [136]
533	globulol	al [112], br [112], ce [112], ko [137], ne [148]
534	lédol	ne [147]
535	viridiflorol	ko [137], ne [148]
536	alloaromadendrène	ko [140]
537	α -gurjunène	al [113], ko [139]
538	(-)-isolédène	fi [129], hm [129], mi [129], sa [129]
himachalane		
539	himachalol	bm [123], cc [58], ci [58], et [123], no [123]
540	isoitalicène	ko [136]
541	italicène	ko [136]
542	himachala-3,5-diène	al [157]
543	α -himachalène	al [158], ba [119], bm [123], cc [58], ci [58], et [123], no [123]

No.	Nom	Espèce ^a
544	β -himachalène	al [158], ba [119], bm [123], cc [58], ci [58], ko [139]
545	ar-himachalène	cc [58]
546	γ -himachalène	al [158], ci [58], my [145], sa [145]
547	himachala-4(13),5-diène	al [157]
	humulane	
548	2,3-époxy-humulène	cc [58], si [155]
549	6,7-époxy- α -humulène	ko [136], mr [143], no [170], si [155]
550	α -humulène	al [158], am [117], ba [117], bm [123], br [112], bt [117], cc [58], ce [112], ci [58], co [117], et [123], fi [128], fr [117], gd [117], gr [133], hm [129], ho [116], ko [136], la [117], ma [117], mi [129], mr [168], my [145], ne [146], no [149], pr [117], ps [116], sa [106], se [152], si [154], sq [105], ve [106]
551	γ -humulène	al [158], ba [117], fr [117], gd [117], la [117], ma [117], pr [117]
552	humula-5,11(1)-dién-4-ol	al [157]
	autre	
553	cyclosativène	am [117], ba [117], bt [117], co [117], fr [117], gd [117], la [117], ma [167], pr [117]
554	isolongifolène	ko [140]
555	longibornéol	al [114], bm [123], cc [58], ci [123], et [123], no [123]
556	longicyclène	al [158], am [117], ba [117], et [61], fi [128], fr [117], gr [133], la [117], ma [167], ne [146], no [149], pr [117], se [152]

No.	Nom	Espèce ^a
557	longifolène	al [158], am [117], ba [117] , bm [123], bt [117], cc [58], ci [58], co [117], et [123], fi [128], fr [117], gr [133], hm [129], ko [136], la [117], ma [117], mi [129], ne [146], no [149], pr [117], ps [172], si [154], ve [129]
558	sativène	am [117], ba [117] , bt [117], co [117], fr [117], gd [117], la [117], ma [117], pr [117]
559	α -(+)-longipinène	al [158], am [117], ba [117] , bm [123], bt [117], cc [58], ci [123], co [117], et [123], fr [117], gd [117], gr [133], la [117], ma [117], my [145], ne [146], no [149], pr [117], sa [145], se [152]
560	thujopsène	ko [137]
561	β -bergamotène	am [117], co [117], gd [117], la [117], ma [117], pr [117]
562	β -oplopénone	ne [79]
563	β -santalène	co [117], fr [117], gd [117], la [117], ma [117], pr [117]
564	β -trans-sesquicarène	ba [119]

^a Le code des espèce est détaillé tableau 2 (p. 42).

Tableau 13 : Diterpènes identifiés dans le genre *Abies*

No.	Nom	Espèce ^a
	abiétane	
565	palustradiène	bm [123], cc [123], ci [123], et [123], no [123]
566	palustrol	al [179]
567	palustral	se [152]
568	acide palustrique	gd [134], no [149], pd [83], se [152]

No.	Nom	Espèce ^a
569	lévopimarinol	al [179]
570	acide lévopimarique	gd [134], no [149], se [152]
571	abiésadine E	ge [185]
572	acide néoabiétique	gd [134], no [149], pd [83], sa [187], se [152]
573	méthyl 13-oxo-podocarp-8(14)-én-15-oate	ba [182]
574	acide 9,13 α -épidioxyabiét-8(14)-én-18-oïque	ge [185], mr [186], si [192]
575	acide 9,13 β -épidioxyabiét-8(14)-én-18-oïque	fo [63], ge [185], mr [186], si [176], sp [103]
576	abiésadine W	ge [185]
577	acide 8,12 α -épidioxyabiét-13-én-18-oïque	mr [186], si [192]
578	acide 15-hydroxy-8,12 α -épidioxyabiét-13-én-18-oïque	mr [169]
579	abiésadine D	ge [185]
580	13 β ,18-dihydroxyabiét-8(14)-én-7-one	ge [185]
581	abiésadine U	ge [185]
582	abiésadine V	ge [185]
583	acide 13 β -hydroxy-7-oxoabiét-8(14)-én-18-oïque	ch [125], ge [185]
584	abiésadine T	ge [185]
585	acide 13 β -méthoxy-7-oxoabiét-8(14)-én-18-oïque	ge [185]
586	abiéta-7,13-diène	al [178], bm [123], cc [123], ci [123], et [61], mr [168], no [123], ps [172], sa [95]
587	abiétinol	al [179], fi [128], mr [168], no [149], ps [172], se [152]
588	acide abiétinol-18-succinique	ge [185]
589	abiétinal	al [179], ch [125], fi [128], no [149], se [152]
590	acide abiétique	al [52], ch [125], fi [128], fo [63], gd [134], ge [185], mr [186], no [149], pd [83], sa [187], se [152], si [176], sp [103]
591	acide 15-hydroxyabiétique	no [149]
592	acide 12 α -hydroxyabiétique	fo [63], mr [186]
593	acide 12 α -methoxyabiétique	sp [103]

No.	Nom	Espèce ^a
594	acide 15-hydroxy-12-oxoabiéta-7,13-diène-18-oïque	ge [185]
595	abiétate de méthyle	et [61], no [149]
596	4-épiabiétinal	sa [95]
597	déhydroabiétane	al [177], bm [123], cc [58], ci [123], et [61], mr [168], no [123], ps [172], sa [95]
598	abiéta-8,11,13-triène-7-one	al [177]
599	déhydroabiétinol	al [179], fi [128], ge [185], mr [169], ps [172], si [176]
600	abiéta-8,11,13-triène-15,18-diol	fo [63], ge [185], mr [169], ps [172]
601	abiéta-8,11,13-triène-7 α ,18-diol	ge [185], mr [168]
602	7 β ,18-dihydroxydéhydroabiétanol	ch [125], ge [185]
603	7-oxodéhydroabiétinol	ge [185]
604	15,18-dihydroxyabiéta-8,11,13-triène-7-one	sp [103]
605	18-succinyloxyabiéta-8,11,13-triène	ch [125], ge [185], si [193]
606	abiésadine I	ge [185], sp [103]
607	abiésadine J	ge [185]
608	abiésadine F	ge [185]
609	abiésadine L	ge [185]
610	abiésadine M	ge [185]
611	abiésadine G	ge [185]
612	abiésadine Q	ge [185]
613	abiésadine R	ge [185], sp [103]
614	méthyle ester de 18-succinyloxyabiéta-8,11,13-triène	si [176], sp [103]
615	abiésadine K	ge [185]
616	abiésadine H	ge [185]
617	abiésadine S	ge [185]
618	déhydroabiétal	al [179], et [61], fi [128], no [149], sa [95]
619	acide déhydroabiétique	et [61], fi [128], fo [63], gd [134], ge [185], mr [186], no [149], pd [83], sa [187], se [152], sp [103]
620	acide 15-hydroxydéhydroabiétique	ba [182], fo [63], ge [185], mr [186], no [149], sp [103]
621	abiésadine N	ch [125], ge [185]

No.	Nom	Espèce ^a
622	abiésadine P	ge [185]
623	acide 7 α -hydroxydéhydroabiétique	ge [185]
624	acide 7 β -hydroxydéhydroabiétique	ge [185]
625	acide 7 α ,15-dihydroxyabiéta-8,11,13-trién-18-oïque	ge [185]
626	acide 7 β ,15-dihydroxydéhydroabiétique	ge [185]
627	abiésadine O	ge [185]
628	acide 7 α -méthoxydéhydroabiétique	sp [103]
629	acide 7-oxocallitrisique	ge [185], mr [186]
630	acide 15-hydroxy-7-oxoabiéta-8,11,13-trién-18-oïque	fo [63], ge [185], sp [103]
631	déhydroabiétate de méthyle	no [149], si [176]
632	15-hydroxydéhydroabiétate de méthyle	ba [182], no [149]
633	18-norabiéta-8,11,13-trién-4-ol	sp [103]
634	18-norabiéta-8,11,13-triène-4,15-diol	ge [184]
635	4 α -hydroxy-18-norabiéta-8,11,13-trién-7-one	ge [184]
636	acide 12-hydroxydéhydroabiétique	ch [125], ge [185]
637	20-norabiéta-8,11,13-triène	et [61]
638	abiésadine A	ge [185]
639	abiésadine B	ge [185]
640	abiésadine C	ge [185]
kaurane		
641	13-méthyl-17-norkaur-5-ène	ko [137]
642	beyerène	ne [79]
labdane		
643	labd-13Z-ène-8 α ,15-diol	ge [185], sp [103]
644	13-épiscloréol	ge [185]
645	isoabiénol	si [189]
646	<i>cis</i> -abiénol	al [179], ba [181], ch [125], ge [185], mr [168], no [149], sa [188], se [152], si [176]
647	labda-8(17),12Z,14-triène	mr [168]
648	labda-7,12Z,14-triène	mr [168]
649	néoabiénol	mr [168], si [191]
650	labda-8(17),11E,13Z-triène	mr [168]
651	labda-7,11E,13Z-triène	mr [168]
652	3 β -hydroxy-13-épimanool	ps [172]
653	(12R,13R)-8,12-époxy-14-labdén-13-ol	ch [125], ge [185], mr [169]
654	(12S,13S)-8,12-époxy-14-labdén-13-ol	mr [169]
655	8-hydroxy-14,15-dinor-11-labdén-13-one	ba [182], ge [184], si [190]
656	oxyde de 8-épimanoyle	sp [103]

No.	Nom	Espèce ^a
657	oxyde de 13-épimanoyle	am [180], ba [180], et [61], gd [180], la [180]
658	oxyde de manoyle	al [114], am [180], ba [180], et [61], gd [180], ko [137], la [180], sp [103]
659	manool	am [180], ba [180], ch [125], fo [63], gd [180], ge [185], la [180], sa [94], si [176], sp [103]
660	13-épimanool	al [177], fi [183], mr [169], ps [172], sa [95]
661	torreférol	ch [125], ge [185], sp [103]
662	13-épitorreférol	fi [183]
663	abiésadine X	ge [185], sp [103]
664	abiésadine Y	ge [185], sp [103]
665	18-acétoxy-13-épimanool	fi [183]
666	(12 <i>E</i>)-8-hydroxy-15-nor-12-labdén-14-al	ba [182]
667	ambrox	et [61]
668	12,15-époxy-12,14-labdadién-8-ol	cc [58]
pimarane		
669	isopimarinol	al [179], fi [128]
670	isopimarinal	al [179], fi [128]
671	acide isopimarique	fi [128], gd [134], no [149], pd [83], se [152], sp [103]
672	sandaracopimaradiène	et [61]
673	pimarinol	al [179]
674	pimarinal	al [179]
675	acide pimarique	gd [134]
676	acide sandaracopimarique	gd [134], no [149], pd [83], se [152]
677	rimuène	ko [137], ne [79]
podocarpane		
678	abiésanordine B	ge [184]
679	abiésanordine D	ge [184]
680	abiésanordine C	ba [182], ge [184]
681	acide 8(14)-podocarp-13-on-18-oïque	ch [125], ge [184]
682	7 α -hydroxypodocarp-8(14)-én-13-one	ge [184]
683	7 α ,15-dihydroxypodocarp-8(14)-én-13-one	sp [103]
684	abiésanordine F	ge [184], sp [103]

No.	Nom	Espèce ^a
685	abiésanordine E	ge [184]
686	abiésanordine G	ge [184]
687	abiésanordine H	ge [184]
688	abiésanordine I	ge [184]
689	acide 8(14)-podocarpén-7,13-dion-18-oïque	ch [125], ge [184]
690	abiésanordine J	ge [184]
691	abiésanordine L	ge [184]
692	abiésanordine M	ge [184]
693	abiésanordine N	ge [184]
694	acide 17-nor-15-oxo-8,11,13-abietatrién-18-oïque	ge [184]
695	abiésanordine K	ge [184]
696	acide 17-nor-7,15-dioxo-8,11,13-abietatrién-18-oïque	ge [184]
697	abiésanordine A	ge [184]
autre		
698	cambrène	al [114]
699	isocambrène	al [114]
700	phytol	si [176], sp [103]
701	thunbergène	pd [83]
702	abiéséconordine A	fo [63]
703	abiéséconordine B	fo [63]

^a Le code des espèce est détaillé tableau 2 (p. 42).

Tableau 14 : Triterpènes identifiés dans le genre *Abies*

No.	Nom	Espèce ^a
cycloartane		
704	(25 <i>R</i>)-3α-hydroxycycloart-7-én-26,23 <i>R</i> -olide	mr [168], ps [172]
705	(23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-3α-méthoxy-9,19-cyclo-9β <i>H</i> -lanostan-26,23-olide	ps [172]
706	(23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-3α-acétoxy-9,19-cyclo-9β <i>H</i> -lanostan-26,23-olide	mr [169]
707	cyclograndisolide	sp [104]
708	23 <i>R</i> -cyclograndisolide	ch [125], gd [203], ho [165], mr [168]
709	épicyclograndisolide	gd [203]
710	(23 <i>R</i>)-3α-acétoxy-9,19-cyclo-9β <i>H</i> -lanost-24-én-26,23-olide	mr [169]
711	acide isomangiférolique	ho [165]
712	acide awashishinique	ba [182]
713	acide mangiféronique	ho [165]
714	acide 3α-hydroxy-23-oxocycloart-25(27)-én-26-oïque	ba [182]
715	desméthylabietospirane	al [197]
716	abietospirane	al [195]
717	(23 <i>S</i> ,25 <i>R</i>)-3α-acétoxy-17,23-époxy-9,19-cyclo-9β <i>H</i> -lanostan-26,23-olide	mr [169]
718	24-méthylénecycloartanol	si [176]

No.	Nom	Espèce ^a
719	lagérénol	si [176]
720	cycloeucalénone	ch [125]
721	24-méthylénecycloartanone	si [176]
722	acide 24-méthylène-3,4-sécocycloart-4(28)-én-3-oïque	ko [69], si [223]
723	acide 25,26,27-trinor-3 α -hydroxycycloartan-24-oïque	ho [165]
724	acide 25,26,27-trinor-3 α -méthoxycycloartan-24-oïque	ho [165]
725	acide 24,25,26,27-tétranor-3-oxo-9 β H-lanost-7-én-23-oïque	ho [165]
726	(24 <i>R</i>)-cycloartane-3 α ,24,25-triol	ge [202], re [213]
727	néoabiétrine H	re [213]
728	(24 <i>R</i>)-cycloartane-3 β ,24,25-triol	ge [202], re [213]
729	abiésatine I	ge [202], re [213]
730	néoabiétrine I	re [213]
731	3 β -acétoxycycloartane-24,25-diol	re [213]
732	abiésatine J	ge [202]
733	méthyl (24 <i>Z</i>)-26-carboxy-3,4-sécocycloarta-4(29),24-dién-3-oate	ge [202]
734	néoabiétrine G	re [213]
ursane		
735	acide ursolique	ge [202]
736	acide dammarolique	ge [202]
737	acide 2 α ,3 β ,24-trihydroxyurs-12-én-28-oïque	ge [202]
hopane		
745	hopane-3 α ,22-diol	mi [208], ve [239]
746	hopane-3 β ,22-diol	mi [208]
gammacérane		
738	gammacérane-3 α ,21 β -diol	mi [208]
739	3 α -hydroxygammacéran-21-one	mi [208]
740	gammacérane-3 β ,21 α -diol	mi [208], ve [239]
741	gammacérane-3,21-dione	mi [208]
742	diméthyle éther de 21-épisserratènediol	sp [103]
743	serratènedione	sp [103]
744	isoserratènedione	sp [103]
lanostane		
747	acide (25 <i>R</i>)-3 α -hydroxy-23-oxo-9 β H-lanost-7-én-26-oïque	mr [186]
748	3 α -hydroxy-9 β H-lanosta-7,24-dién-26,23 <i>R</i> -olide	mi [71], si [228], ve [238]
749	abiésatine E	ge [202], re [213]
750	abiésatine F	ge [202]
751	3 β -hydroxy-9 β H-lanosta-7,24-dién-26,23 <i>R</i> -olide	fi [201], ve [238]
752	abieslactone	mi [206], si [228], ve [237]
753	(25 <i>R</i>)-3 α -méthoxy-9 β H-lanost-7-én-26,23 <i>R</i> -olide	si [228]
754	3 α -acétoxy-9 β H-lanosta-7,24-dién-26,23 <i>R</i> -olide	si [235]

No.	Nom	Espèce ^a
755	(20 <i>R</i>)-25,26,27-trinor-9β <i>H</i> -lanost-7-ène-3,23-dione	si [230]
756	abiésatrine D	ge [202]
757	abiésatrine H	ge [202], re [213]
758	abiésatrine G	ge [202]
759	acide (24 <i>Z</i>)-firmanoïque	ge [202], si [222]
760	acide firmanoïque	ba [182], fi [183], ge [202], mi [200], re [213], si [222]
761	acide isofirmanoïque	fi [183], ge [202], mi [200], si [225]
762	3-oxo-9β <i>H</i> -lanosta-7,24-diène-26,23 <i>R</i> -olide	fi [62], mi [209], si [228], ve [238]
763	(25 <i>R</i>)-3-oxo-9β <i>H</i> -lanost-7-én-26,23 <i>R</i> -olide	ho [165], si [235]
764	23-hydroxy-3-oxolanosta-7,24-diène-26,23-olide	si [234]
765	3-oxo-9β <i>H</i> -lanost-7-ène-24 <i>S</i> ,25-diol	sa [215]
766	(24 <i>E</i>)-3-oxo-9β <i>H</i> -lanosta-7,24-diène-26-ol	ko [205]
767	27-hydroxy-3-oxo-9β <i>H</i> -lanosta-7,24-diène-26,23 <i>R</i> -olide	fi [201]
768	(16 <i>R</i>)-3-oxo-16,23-époxy lanosta-7,24-diène-26,23 <i>S</i> -olide	si [235]
769	abiésatrine A	ge [202]
770	23-épi-firmanolide	fi [183]
771	firmanolide	fi [183]
772	3-oxo-9β <i>H</i> -lanosta-7,22 <i>Z</i> ,24-triène-26,23-olide	ko [69], si [226]
773	(23 <i>R</i>)-3α-méthoxylanosta-8,24-diène-26,23-olide	mi [71]
774	acide (24 <i>E</i>)-lanosta-8,24-diène-3,23-dion-26-oïque	fa [199], si [225]
775	23-hydroxy-3-oxolanosta-8,24-diène-26,23-olide	si [234]
776	3-oxo-lanosta-8,22 <i>Z</i> ,24-triène-26,23-olide	si [226]
777	néoabieslactone B	ch [125]
778	néoabieslactone A	ch [125]
779	néoabieslactone C	ch [125]
780	néoabieslactone D	ch [125]
781	3α-hydroxylanost-9(11)-én-26,23-olide	al [194]
782	veitchiolide	ve [237]
783	acide lanosta-7,9(11),24-triène-26-oïque	ho [165]
784	9,11-déhydroabieslactone	ve [238]
785	pindrolactone	ho [165], pd [212]
786	(20 <i>R</i>)-25,26,27-trinor-3α-hydroxy-17,13-friedo-9β <i>H</i> -lanosta-7,12-diène-23-one	si [233]
787	acide mariesiique B	mi [200]
788	abiésatrine B	fo [63], ge [202], re [213], si [236]
789	acide 23-oxomariesiique B	fi [200], ge [202], mi [200], re [213], si [236]
790	abiésatrine C	ge [202]

No.	Nom	Espèce ^a
791	(20 <i>R</i>)-25,26,27-trinor-17,13-friedo-9β <i>H</i> -lanosta-7,12-diène-3,23-dione	si [233]
792	néoabiétrine C	re [213]
793	(20 <i>R</i>)-25,26,27-trinor-3α-hydroxy-17,14-friedo-9β <i>H</i> -lanosta-7,14-diène-23-one	si [230]
794	acide mariesiique A	mi [207]
795	néoabiétrine A	re [213]
796	acide (24 <i>Z</i>)-23-oxo-mariesiique A	si [224]
797	acide 23-oxomariesiique A	fi [200], mi [200], sa [217], si [224]
798	7,14,24-mariesatrién-26,23-olide-3α,23-diol	sa [217]
799	7,14,22 <i>Z</i> ,24-mariesatétraén-26,23-olid-3α-ol	sa [217], si [232]
800	acide (3 <i>R</i>)-3-méthoxy-23-oxomariesia-7,14,24 <i>Z</i> -trién-26-oïque	si [227]
801	(20 <i>R</i>)-25,26,27-trinor-17,14-friedo-9β <i>H</i> -lanosta-7,14-diène-3,23-dione	si [230]
802	acide (24 <i>Z</i>)-3,23-dioxo-mariesia-7,14,24-trien-26-oïque	si [224]
803	acide (24 <i>E</i>)-3,23-dioxo-mariesia-7,14,24-trien-26-oïque	si [224]
804	7,14,22 <i>Z</i> ,24-mariesatétraen-26,23-olide-3-one	si [176]
805	acide 7,14-mariesadiène-3α-hydroxy-25-méthoxy-26-oïque	sa [218]
806	néoabiétrine B	re [213]
807	(20 <i>R</i>)-25,26,27-trinor-3α-hydroxy-17,13-friedo-lanosta-8,12-diène-23-one	si [233]
808	néoabieslactone F	ch [125], re [213]
809	néoabieslactone E	ch [125]
810	3α-hydroxy-7-oxolanosta-8,24-diène-26,23 <i>R</i> -olide	mi [210]
811	3α,11α-dihydroxy-7-oxo-lanosta-8,24-diène-26,23 <i>R</i> -olide	mi [209]
812	3α-hydroxy-7,11-dioxolanosta-8,24-diène-26,23 <i>R</i> -olide	mi [210]
813	1α,3α,11α-trihydroxy-7-oxo-lanosta-8,24-diène-26,23 <i>R</i> -olide	mi [209]
814	3α-hydroxy-1,7,11-trioxolanosta-8,24-diène-26,23 <i>R</i> -olide	mi [210]
815	(20 <i>R</i>)-25,26,27-trinor-3α-hydroxy-8β <i>H</i> -lanosta-9(11),16-diène-23-one	si [230]
816	acide mariesiique C	mi [200]
817	(20 <i>R</i>)-25,26,27-trinor-8(14→13 <i>R</i>)-abéo-17,13-friedo-lanosta-8,14(30)-diène-3,23-dione	si [233]
818	néoabiétrine D	re [213]
819	acide 8(14→13 <i>R</i>)-abéo-lanosta-8,14(30),24 <i>Z</i> -triène-3,23-dion-26-oïque	si [229]
820	acide 8(14→13 <i>R</i>)-abéo-lanosta-8,14(30),24 <i>E</i> -triène-3,23-dion-26-oïque	fa [199], re [213], si [229]
821	néoabiétrine E	re [213]
822	acide isomariesiique C	mi [200]

No.	Nom	Espèce ^a
823	acide (24 <i>E</i>)-3,4-séco-9β <i>H</i> -lanosta-4(28),7,24-triène-3,26-dioïque	ba [182], ko [205]
824	acide (25 <i>R</i>)-3,4-séco-9β <i>H</i> -lanosta-4(28),7-dién-23-one-3,26-dioïque	al [196], ba [182]
825	acide (24 <i>E</i>)-23-oxo-3,4-séco-9β <i>H</i> -lanosta-4(28),7,24-triène-3,26-dioïque	ba [182]
826	acide abiésolidique	ba [182], ho [165], sa [215], si [221]
827	abiésanolide F	sa [217]
828	acide (22 <i>Z</i>)-3,4-séco-9β <i>H</i> -lanosta-4(28),7,22,24-tétraén-23,26-olid-3-oïque	ba [182], ho [165]
829	(23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-3,4-séco-9β <i>H</i> -lanosta-4(28),7-dién-26,23-olid-3-oate de méthyle	ho [165], sa [215]
830	acide <i>cis</i> -sibirique	si [227]
831	acide <i>trans</i> -sibirique	ba [182]
832	acide (23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-3,4-séco-17,14-friédo-9β <i>H</i> -lanosta-4(28),6,8(14)-trién-26,23-olid-3-oïque	ba [182], ho [165], sa [215]
833	abiésanolide E	sa [217]
834	acide anhydrosibirique	sa [214], si [227]
835	abiésanolide I	sa [219]
836	acide (25 <i>R</i>)-3,4-séco-23-oxo-abiésa-4(28),7,14(30)-triène-3,26-dioïque	al [196]
837	acide (24 <i>Z</i>)-abiésonique	si [224]
838	acide abiésonique	al [196], ba [198], si [220]
839	acide 3,4-séco-8-(14→13 <i>R</i>) <i>abéo</i> -17,13-friédo-9β <i>H</i> -lanosta-4(28),7,14(30),24-tétraén-26,23-olide-23-hydroxy-3-oïque	sa [218]
840	abiésanolide A	sa [214]
841	3-méthyle ester de l'acide abiésonique	ba [182]
842	abiésanolide B	sa [214]
843	acide 3,4-séco-8-(14→13 <i>R</i>) <i>abéo</i> -17,13-friédo-9β <i>H</i> -lanosta-4(28),7,14,24-tétraén-26,23-olide-23-hydroxy-3-oïque	sa [216]
844	abiésanolide C	ho [165], sa [214]
845	3,4-séco-8-(14→13 <i>R</i>) <i>abéo</i> -17,13-friédo-9β <i>H</i> -lanosta-4(28),7,14,24-tétraén-26,23-olide-23-hydroxy-3-oate de méthyle	sa [216]
846	abiésanolide D	sa [214]
847	abiésanolide J	sa [219]
848	(2(31) <i>E</i> ,20 <i>R</i>)-25,26,27-trinor-2-éthylidène-9β <i>H</i> -lanosta-2(31),7-diène-3,23-dione	si [231]
849	(2(31) <i>Z</i> ,20 <i>R</i>)-25,26,27-trinor-2-éthylidène-9β <i>H</i> -lanosta-2(31),7-diène-3,23-dione	si [231]
850	spiromariénonol A	mi [211]

No.	Nom	Espèce ^a
851	spiroveitchionolide	ve [240]
852	spiromariénol B	mi [211]

^a Le code des espèce est détaillé tableau 2 (p. 42).

Tableau 15 : Tétraterpènes identifiés dans le genre *Abies*

No.	Nom	Espèce ^a
853	abiestétrane A	fa [199]
854	abiestétrane B	fa [199]
855	abibalsamine A	ba [198]
856	abibalsamine B	ba [198]

^a Le code des espèce est détaillé tableau 2 (p. 42).

Tableau 16 : Stérols identifiés dans le genre *Abies*

No.	Nom	Espèce ^a
857	campestérol	al [177], fi [62], pd [83]
858	β -sitostérol	al [177], fi [128], ge [66], ko [69], mi [73], mr [169], no [170], pd [83], ps [172], sa [94], si [235], sp [103], yu [247]
859	3 β -hydroxy-7-oxocholest-5-ène	mr [169]
860	3- <i>O</i> - β -glucopyranoside de β -sitosterol	ko [69]
861	β -sitosténone	sa [188], sp [103]
862	(22 <i>S</i>)-5 α -ergostane-3 α ,22-diol	ps [172]

^a Le code des espèce est détaillé tableau 2 (p. 42).

Tableau 17 : Autres composés identifiés dans le genre *Abies*

No.	Nom	Espèce ^a
longue chaîne		
863	dodécane	sq [105]
864	nonadécane	sa [150]
865	eicosane	ko [137]
866	hénéicosane	sa [150]
867	docosane	sa [150]
868	tricosane	sa [150]
869	tridécan	fi [129], hm [129], mi [129], sa [129], ve [129]
870	hexanol	ko [137], ne [148], sa [150]
871	nonanol	sa [150]

No.	Nom	Espèce ^a
872	hexanal	ne [148], sa [95]
873	nonanal	bm [123], cc [123], ci [123], et [123], no [123], sa [95], sq [105]
874	décanal	al [114]
875	aldehyde laurique	al [114]
876	2-nonanone	bm [124]
877	(2 <i>E</i>)-hex-2-énal	ko [139], xa [156]
878	hex-3 <i>E</i> -énal	ne [148]
879	oct-1-én-3-ol	ko [137]
880	acétate d'oct-1-én-3-yle	ko [137]
881	(3 <i>Z</i>)-hex-3-én-1-ol	ko [137], ne [148], sa [150]
882	acétate d'hex-3 <i>Z</i> -ényle	ve [106]
883	hex-3 <i>Z</i> -énal	ne [148]
884	7-pentadécyne	et [61]
acide gras		
885	acide pentadécanoïque	et [61]
886	acide palmitique	et [61], ge [66]
887	acide docosanoïque	fi [62]
888	acide tricosanoïque	fi [62]
889	acide tétracosanoïque	fi [62]
890	acide pentacosanoïque	fi [62]
891	acide hexacosanoïque	fi [62]
892	métholène	et [61]
893	octanoate d'éthyle	sq [105]
894	acide oléique	et [61], ge [66], mr [169]
895	oléate de méthyle	et [61]
896	acide octadéca-2,4-diénoïque	ge [66], sp [103]
897	élaïdate de méthyle	sp [103]
898	acide nonadéca-5,9-diénoïque	sp [103]
899	acide linoléique	et [61]
ionone		
900	α -ionone	al [112], br [112], ce [112]
901	déhydrovomifoliol	ge [66]
902	acide abscisique	ba [249]
903	icaricide B5	sp [103]
alcaloïde		
904	($\alpha R, 2R$)-2,3,4,5-tétrahydro- α ,6-diméthyl-2-pyridineéthanol	ba [336], co [336]
905	(<i>R</i>)-1-(2,3,4,5-tétrahydro-6-méthyl-2-pyridinyl)-2-propanone	ba [336], co [336]

No.	Nom	Espèce ^a
906	(+)-euphococcinine	ba [336], co [336]
	autre	
907	alcool isopropylique	sa [95]
908	glucoside de 1,1-diméthylallyle	sp [103]
909	salvène	sa [95]
910	6-méthyl-7-octén-2-one	sa [95]
911	1,1,3,4-tétraméthylcyclopentane	sa [95]
912	3-cyclopentène-1-acétaldéhyde	et [61]
913	5-éthyl-1,3-cyclopentadiène	sa [95]
914	benzaldéhyde	et [61]
915	4,4-diméthyl-2-cycloheptén-1-one	ba [248]
916	1-cyclohexène-1-carboxaldéhyde	et [61]
917	acide shikimique	pd [83]
918	toluène	sa [95]
919	p-xylène	et [61]
920	2,5-diméthylstyrène	sa [95]
921	jasmone	et [61]
922	gossonorol	sa [95]
923	4-éthoxy-4-oxobutanoïque 2-(2-méthyltétrahydrofuran-2-yl)acétique anhydride	ge [66]
924	<i>trans</i> -zéatine	ba [250]
925	riboside de <i>trans</i> -zéatine	ba [250]
926	2-pentylfurane	sa [95]
927	périllène	sa [95]
928	pinitol	pd [251]

^a Le code des espèce est détaillé tableau 2 (p. 42).

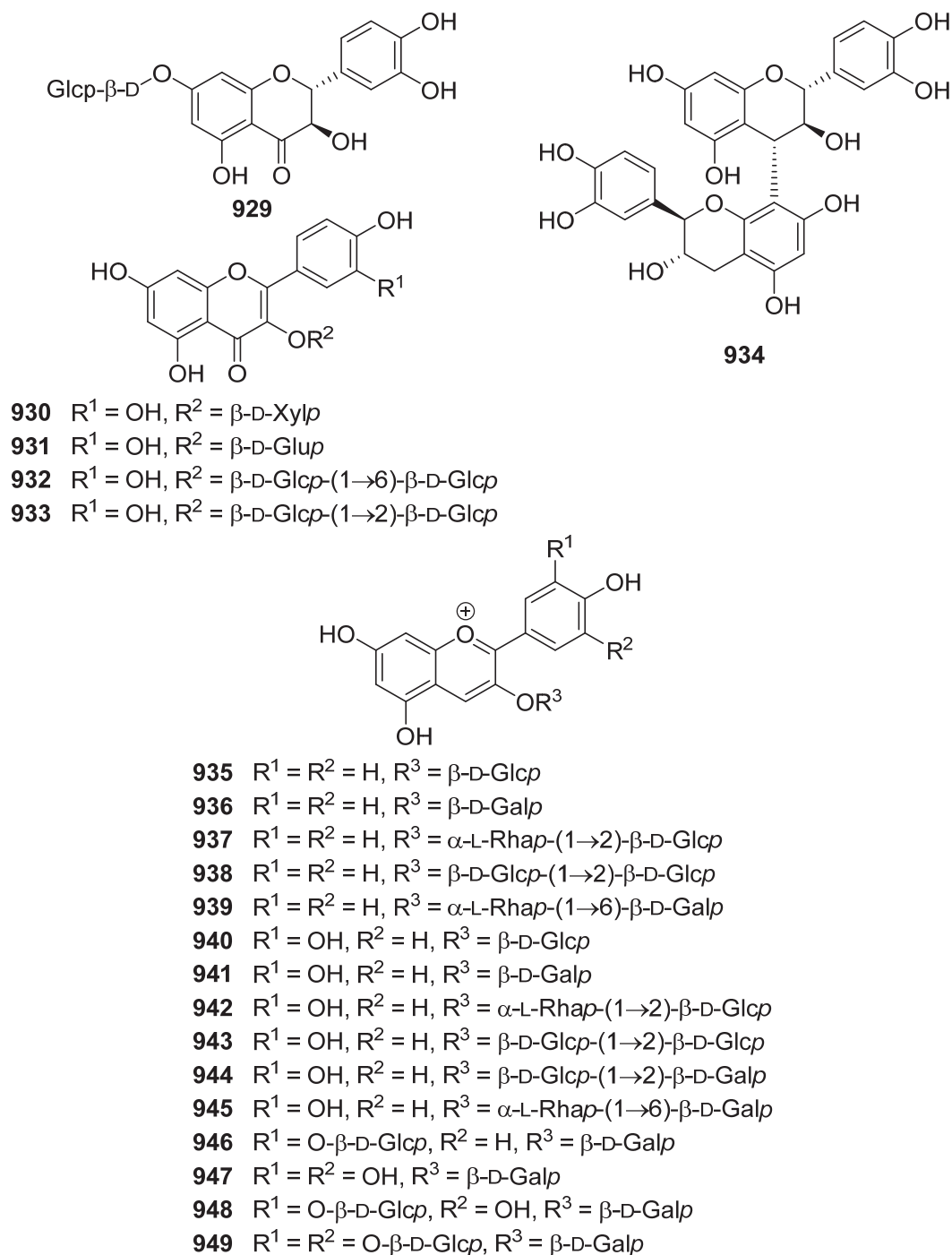
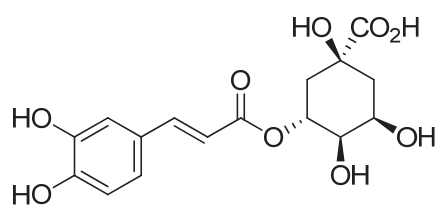
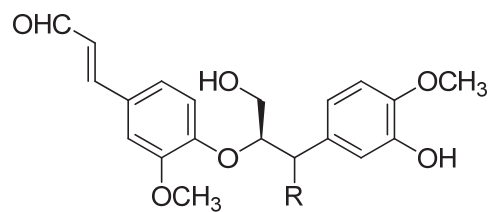
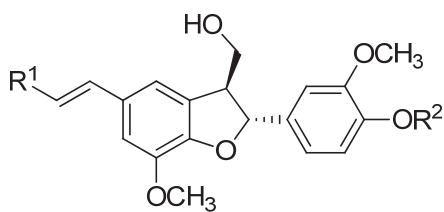
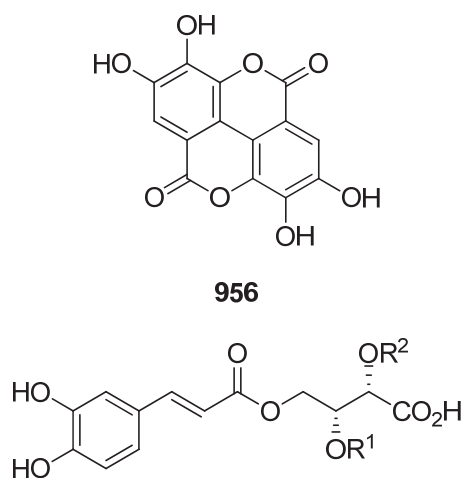
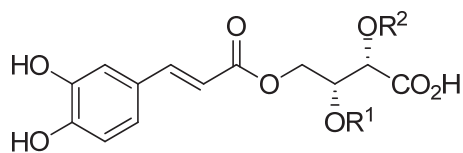
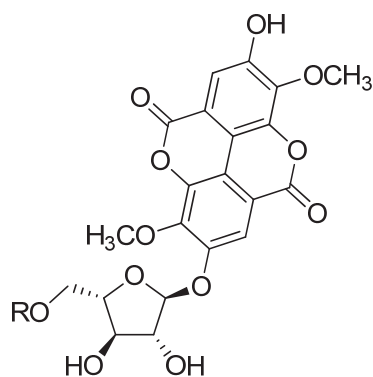
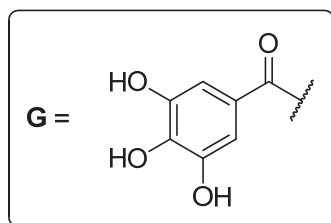
ANNEXE D : STRUCTURE DES MOLÉCULES IDENTIFIÉES DANS LE GENRE *CORNUS*

Figure 48 : Composés phénoliques : flavonoïdes et anthocyanes

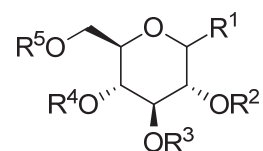
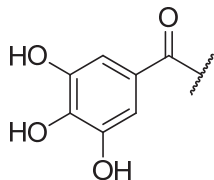
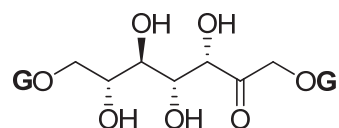
**950****951** R = α -OH**952** R = β -OH**953** R¹ = CH₂OH, R² = H**954** R¹ = CH₂OH, R² = β -D-Xylp**955** R¹ = CHO, R² = H**Figure 49** : Composés phénoliques : lignanes



956

957 $R^1 = R^2 = H$ 958 $R^1 = H, R^2 = G$ 959 $R^1 = R^2 = G$ 960 $R = H$ 961 $R = Ac$ 

G =

962 $R^1 = \beta\text{-OG}, R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$ 963 $R^1 = \beta\text{-OG}, R^2 = G, R^3 = R^4 = R^5 = H$ 964 $R^1 = OH, R^2 = R^3 = G, R^4 = R^5 = H$ 965 $R^1 = \beta\text{-OG}, R^2 = R^3 = G, R^4 = R^5 = H$ 966 $R^1 = \beta\text{-OG}, R^2 = R^5 = G, R^3 = R^4 = H$ 967 $R^1 = OH, R^2 = R^3 = R^5 = G, R^4 = H$ 968 $R^1 = OH, R^2 = H, R^3 = R^4 = R^5 = G$ 969 $R^1 = \beta\text{-OG}, R^2 = R^4 = R^5 = G, R^3 = H$ 970 $R^1 = \beta\text{-OG}, R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = G$ 

971

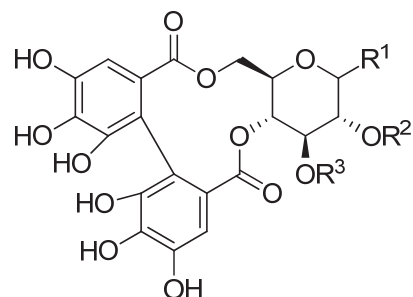
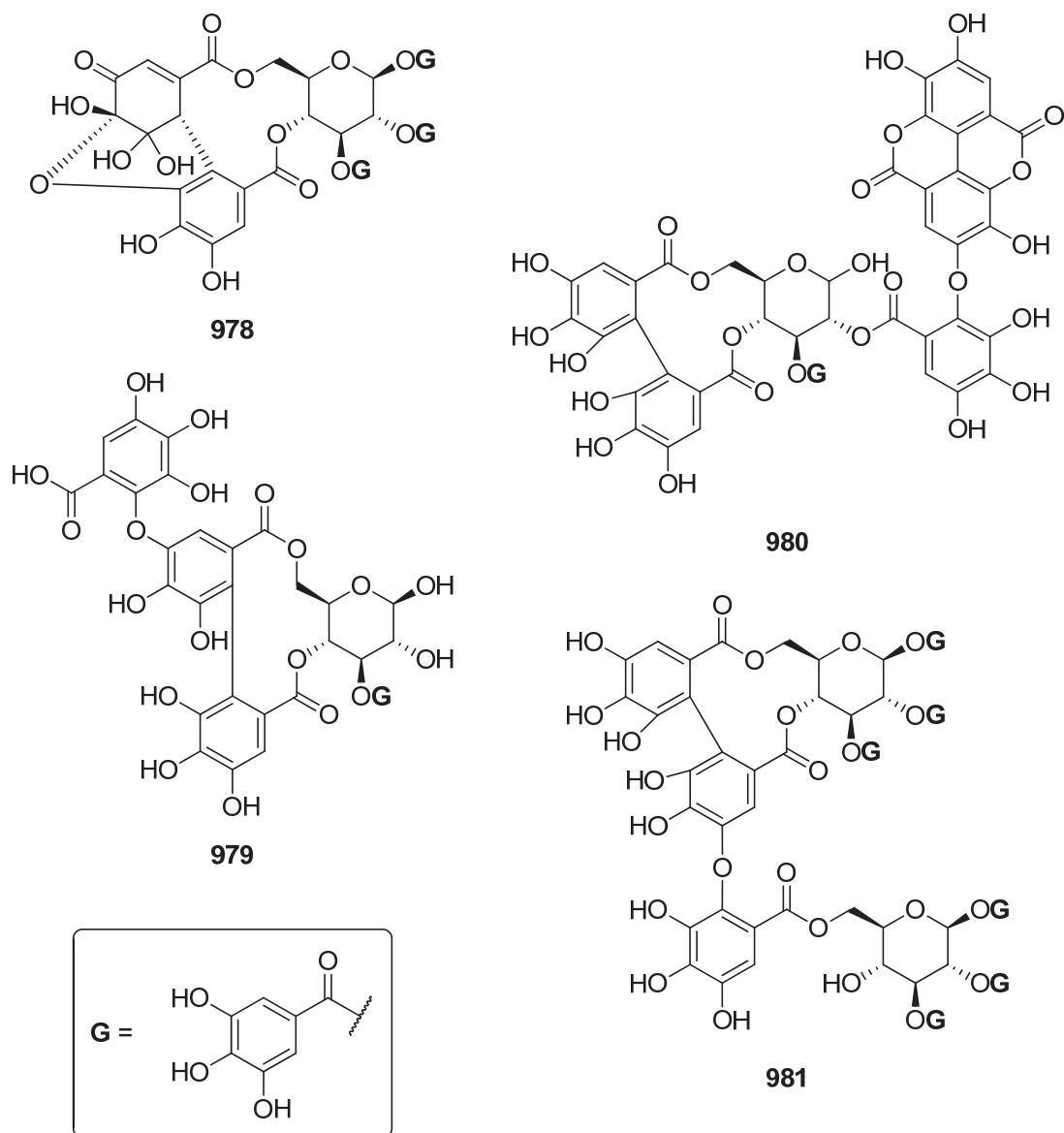
972 $R^1 = \beta\text{-OG}, R^2 = R^3 = H$ 973 $R^1 = \alpha\text{-OG}, R^2 = R^3 = H$ 974 $R^1 = OH, R^2 = G, R^3 = H$ 975 $R^1 = OH, R^2 = H, R^3 = G$ 976 $R^1 = OH, R^2 = R^3 = G$ 977 $R^1 = \beta\text{-OG}, R^2 = R^3 = G$

Figure 50 : Composés phénoliques : tannins



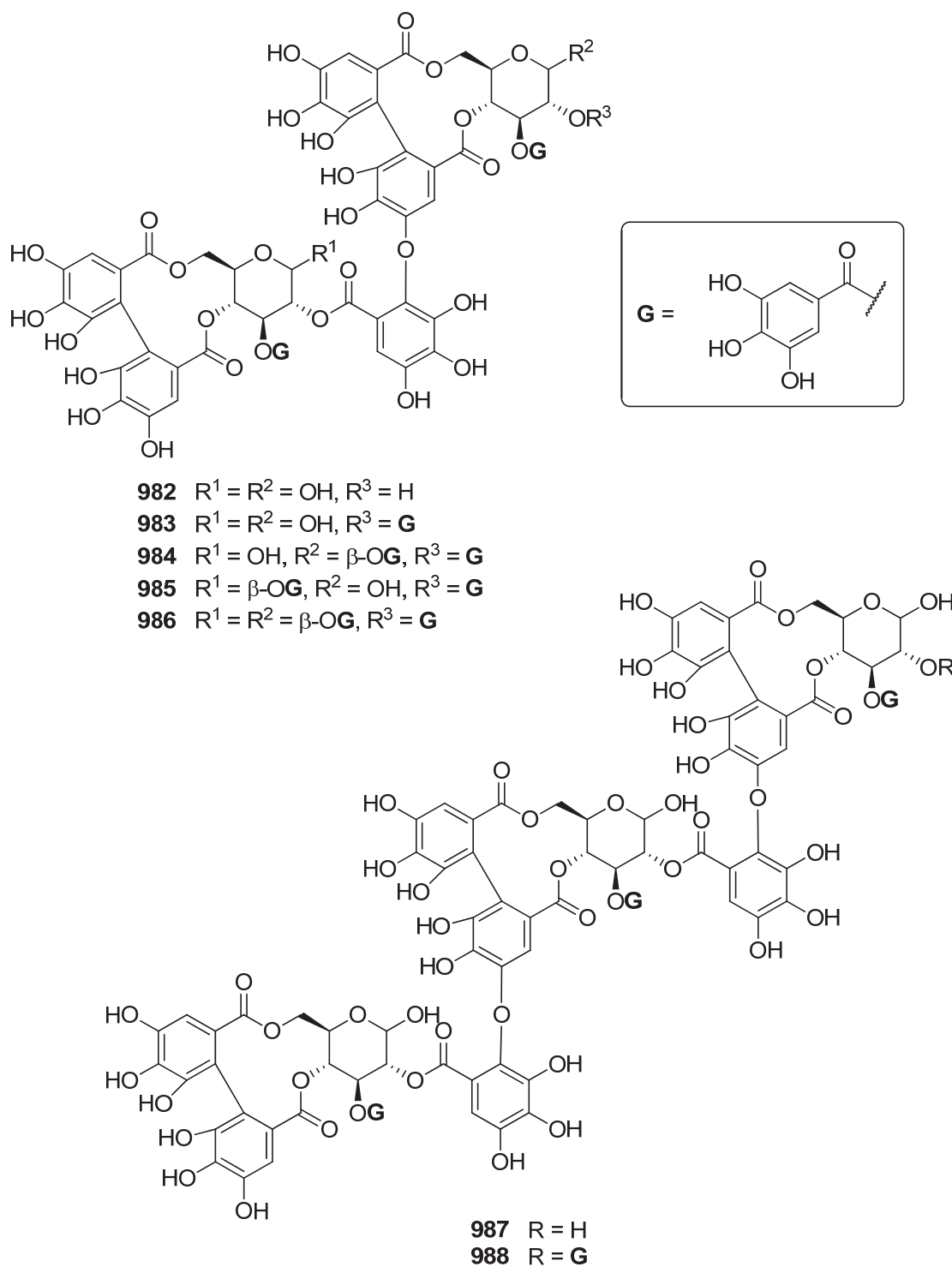
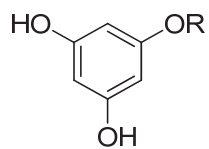


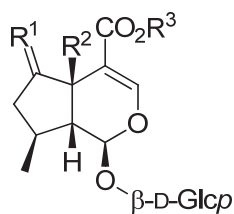
Figure 52 : Composés phénoliques : tannins (suite)



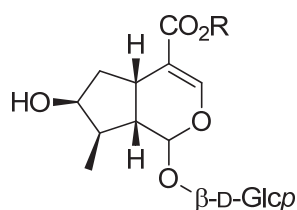
989 R = H

990 R = β -D-Glcp

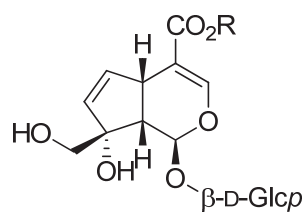
Figure 53 : Composés phénoliques : autres



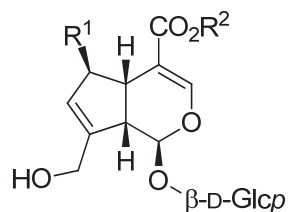
- 991** $R^1 = \beta\text{-OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{H}$
992 $R^1 = \alpha\text{-OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{H}$
993 $R^1 = \beta\text{-OH}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{CH}_3$
994 $R^1 = \text{O}, R^2 = \text{H}, R^3 = \text{CH}_3$
995 $R^1 = \text{O}, R^2 = \text{OH}, R^3 = \text{CH}_3$



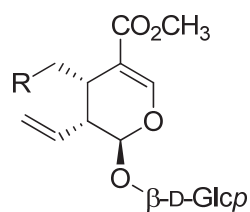
- 996** $R = \text{H}$
997 $R = \text{CH}_3$



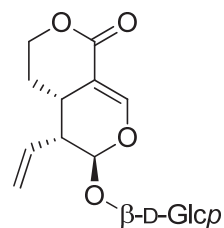
- 998** $R = \text{H}$
999 $R = \text{CH}_3$



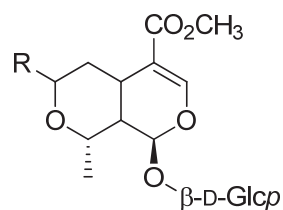
- 1000** $R^1 = \text{H}, R^2 = \text{CH}_3$
1001 $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{H}$
1002 $R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{CH}_3$



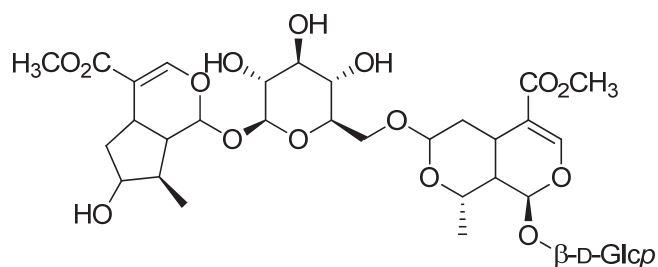
- 1003** $R = \text{CHO}$
1004 $R = \text{CH}_2\text{O-Galloyl}$



1005



- 1006** $R = \text{OH}$
1007 $R = \alpha\text{-OEt}$
1008 $R = \beta\text{-OEt}$
1009 $R = \text{OBu}$
1010 $R = \text{OAc}$



1011

Figure 54 : Monoterpènes : iridoïdes

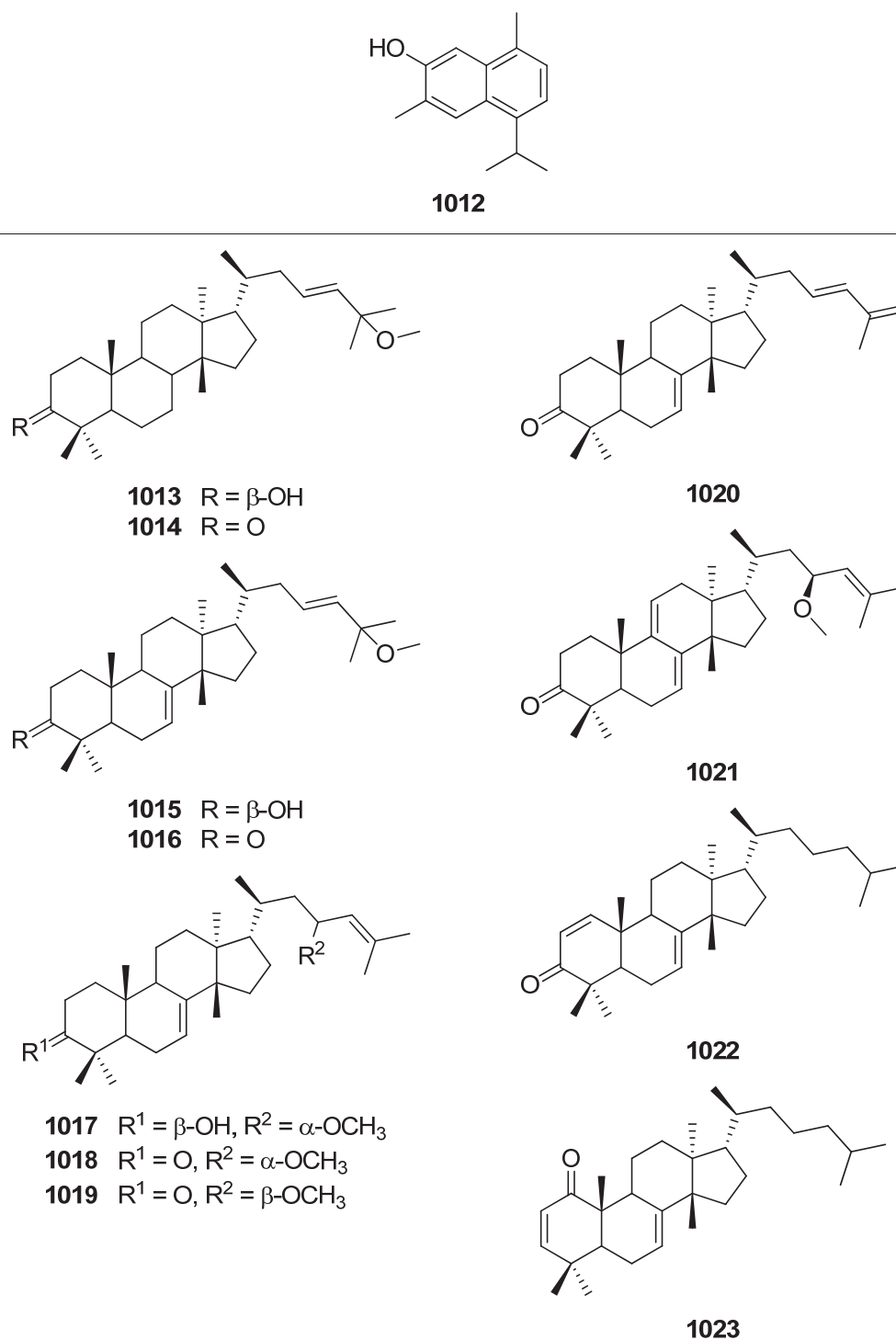
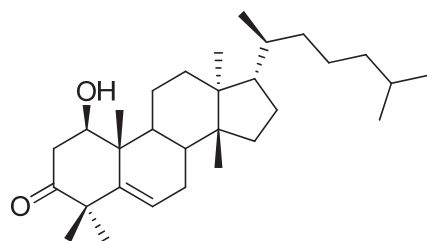
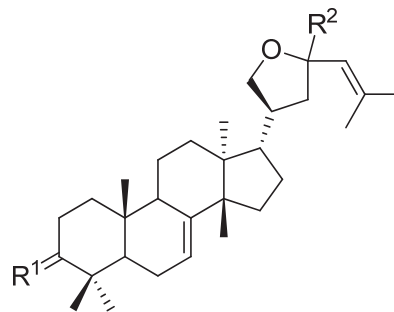
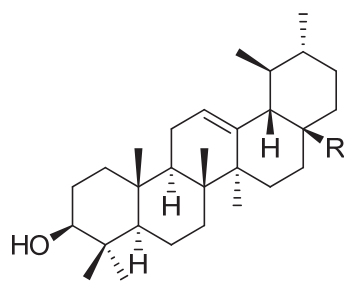
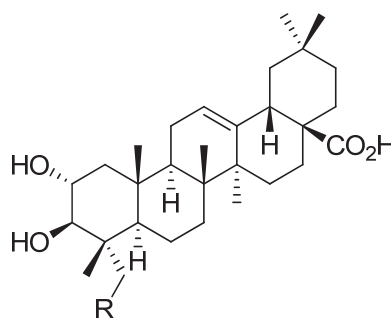
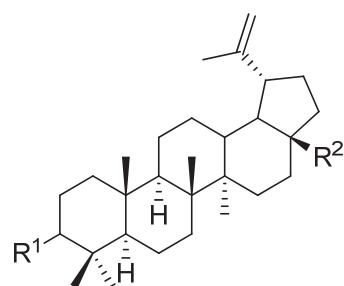
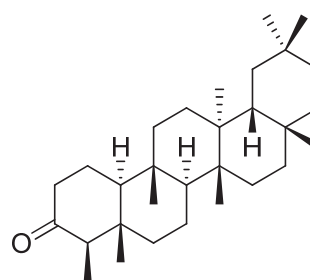


Figure 55 : Terpènes : cadinanes et tirucallanes

**1024****1025** $R^1 = \beta\text{-OAc}$, $R^2 = \alpha\text{-H}$ **1026** $R^1 = \text{O}$, $R^2 = \alpha\text{-H}$ **1027** $R^1 = \text{O}$, $R^2 = \beta\text{-H}$ **1028** $R = \text{CHO}$ **1034** $R = \text{H}$ **1035** $R = \text{OH}$ **1029** $R^1 = \beta\text{-OH}$, $R^2 = \text{CH}_3$ **1030** $R^1 = \beta\text{-OH}$, $R^2 = \text{CH}_2\text{OH}$ **1031** $R^1 = \alpha\text{-OH}$, $R^2 = \text{CH}_2\text{OH}$ **1032** $R^1 = \beta\text{-OH}$, $R^2 = \text{CO}_2\text{H}$ **1033** $R^1 = \alpha\text{-OH}$, $R^2 = \text{CO}_2\text{H}$ **1036****Figure 56** : Terpènes : lanostanes, ursanes, lupanes et oléananes

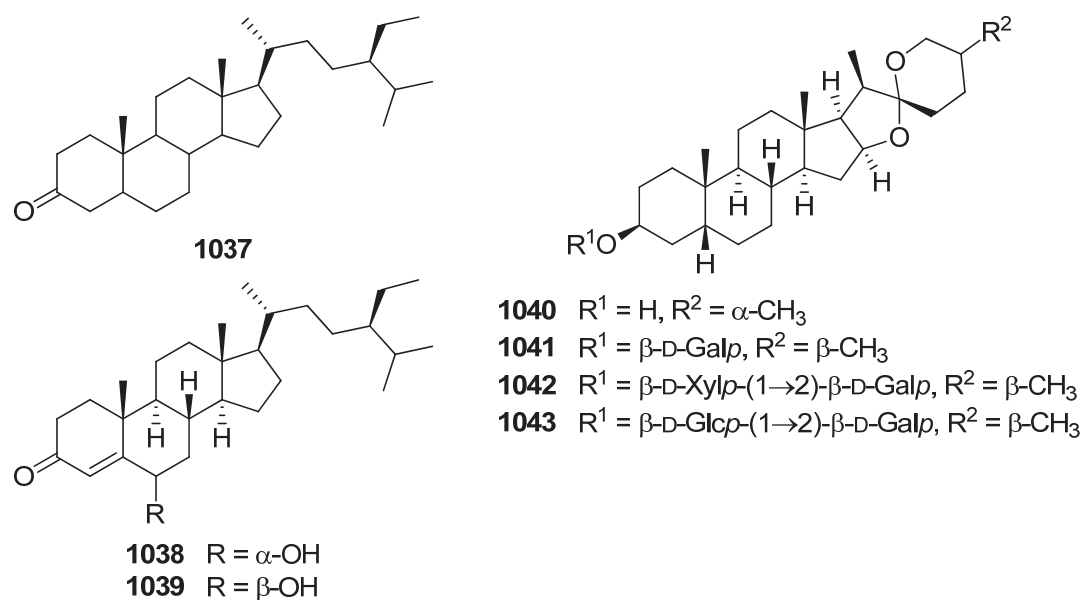


Figure 57 : Stérols : stigmastanes et spirostanes

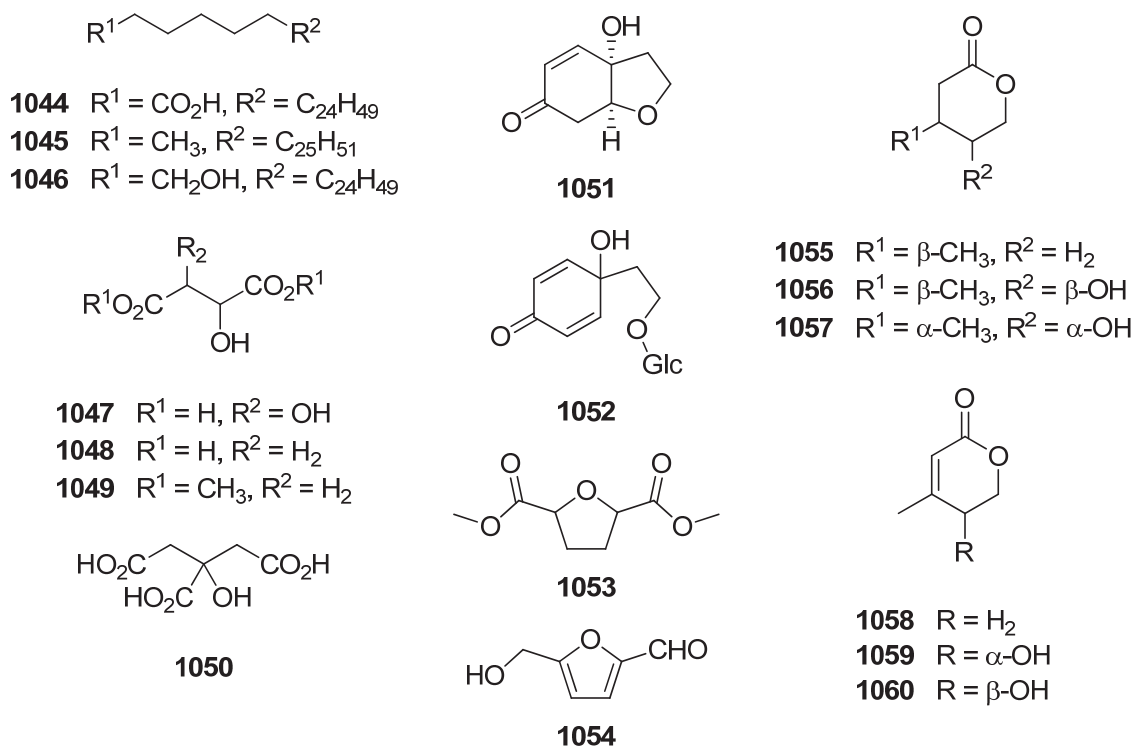


Figure 58 : Autres composés

ANNEXE E : INFORMATIONS DÉTAILLÉES DES COMPOSÉS IDENTIFIÉS DANS LE GENRE ***CORNUS***

Tableau 18 : Composés phénoliques identifiés dans le genre *Cornus*

No.	Nom	Espèce ^a
flavonoïde		
19	catéchine	ko [283]
20	gallocatéchine	ko [283]
41	kaempférol	ms [290], of [297]
42	quercétine	ms [290], of [297]
43	astragaline	cn [276], su [276], un [276]
44	isoquercétine	cn [276], ms [270], su [276], un [276]
48	rutine	ms [290]
49	3- <i>O</i> - β -D-galactopyranoside de kaempférol	ms [270]
50	hypérine	cn [276], ms [270], su [276], un [276]
52	afzéline	co [281], mc [287]
53	quercitrine	mc [287], ms [270]
55	juglaline	cn [276], su [276], un [276]
929	7- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside d'aromadendrine	ms [270]
930	3- <i>O</i> - β -D-xylopyranoside de quercétine	ms [270]
931	3- <i>O</i> - β -D-glucuronide de quercétine	ms [270]
932	3- <i>O</i> - β -gentiobioside de quercétine	su [276], un [276]
933	3- <i>O</i> - β -sophoroside de quercétine	cn [276], su [276], un [276]
934	procyanidine B3	ko [283]
anthocyane		
935	3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside de pélargonidine	cn [275]
936	3- <i>O</i> - β -D-galactopyranoside de pélargonidine	cn [275], co [282], ms [288], of [282]
937	3- <i>O</i> - β -sophoroside de pélargonidine	cn [275]
938	3- <i>O</i> - β -rutinoside de pélargonidine	cn [275]
939	3- <i>O</i> - β -robinobioside de pélargonidine	cn [275], ms [288]
940	3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside de cyanidine	cn [275], su [302]
941	3- <i>O</i> - β -D-galactopyranoside de cyanidine	al [274], cn [275], co [282], ms [288], of [282], su [302]
942	3- <i>O</i> - β -sophoroside de cyanidine	su [302]
943	3- <i>O</i> -[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactopyranoside] de cyanidine	su [302]
944	3- <i>O</i> - β -rutinoside de cyanidine	cn [275]
945	3- <i>O</i> - β -robinobioside de cyanidine	cn [275], ms [288]

No.	Nom	Espèce ^a
946	3- <i>O</i> -β-D-galactopyranoside de 3'- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-cyanidine	al [274]
947	3- <i>O</i> -β-D-galactopyranoside de delphinidine	al [274], co [282], ms [288], of [282]
948	3- <i>O</i> -β-D-galactopyranoside de 3'- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-delphinidine	al [274]
949	3- <i>O</i> -β-D-galactopyranoside de 3',5'-di- <i>O</i> -β-D-glucopyranosyl-delphinidine	al [274]
lignane		
120	laricirésinol	ko [284]
152	(+)-pinorésinol	ko [284]
950	acide chlorogénique	ms [290]
951	érythro-guaïacylglycérol-β-coniféryle aldéhyde éther	ko [284]
952	thréo-guaïacylglycérol-β-coniféryle aldéhyde éther	ko [284]
953	alcool de dihydrodéhydrodiconiféryle	ko [284]
954	cornuskoside A	ko [285]
955	(-)-balanophonine	ko [284]
tannin		
956	acide ellagique	ms [290]
957	acide (-)-4-(<i>E</i>)-caféoyl-L-thréonique	co [281]
958	acide (-)-2-galloyl-4-(<i>E</i>)-caféoyl-L-thréonique	co [281]
959	acide (-)-2,3-digalloyl-4-(<i>E</i>)-caféoyl-L-thréonique	co [281]
960	sténophylline H1	cp [279]
961	4-(5"-acétyl)-α-L-arabinofuranoside de l'acide 3,3'-di- <i>O</i> -méthylellagique	cp [279]
962	β-glucogalline	ko [283]
963	1,2-di- <i>O</i> -galloyl-β-D-glucopyranoside	of [294]
964	2,3-di- <i>O</i> -galloyl-D-glucose	of [292]
965	1,2,3-tri- <i>O</i> -galloyl-β-D-glucopyranoside	of [292]
966	1,2,6-tri- <i>O</i> -galloyl-β-D-glucopyranoside	of [292]
967	1,2,3,6-tétra- <i>O</i> -galloyl-β-D-glucopyranoside	cp [280], of [292]
968	3,4,6-tri- <i>O</i> -galloyl-D-glucose	of [294]
969	1,2,4,6-tétra- <i>O</i> -galloyl-β-D-glucopyranoside	of [294]
970	1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -galloyl-β-D-glucopyranoside	cp [280], of [299]
971	1,7-di- <i>O</i> -galloyl-D-sédoheptulose	of [294]
972	1- <i>O</i> -galloyl-4,6-(<i>S</i>)-hexahydroxydiphénoyl-β-D-glucopyranoside	of [294]
973	1- <i>O</i> -galloyl-4,6-(<i>S</i>)-hexahydroxydiphénoyl-α-D-glucopyranoside	of [294]
974	2- <i>O</i> -galloyl-4,6-(<i>S</i>)-hexahydroxydiphénoyl-D-glucose	of [294]
975	gémine D	of [292]
976	tellimagrandine I	of [292]
977	tellimagrandine II	of [292]
978	isoterchébine	of [292]
979	coriariine F	of [294]

No.	Nom	Espèce ^a
980	cornusiine B	of [292]
981	cornusiine G	of [296]
982	camptothine A	of [295]
983	cornusiine A	of [292]
984	camptothine B	of [295]
985	cornusiine D	of [295]
986	cornusiine E	of [295]
987	cornusiine F	of [295]
988	cornusiine C	of [293]
	autre	
224	acide gallique	cp [278], ms [290], of [298]
255	acide coumarique	of [267]
259	acide caféique	ms [290], of [300]
989	phloroglucinol	cp [278]
990	phlorine	cp [277]

^a Le code des espèce est détaillé tableau 7 (p. 64).

Tableau 19 : Iridoïdes identifiés dans le genre *Cornus*

No.	Nom	Espèce ^a
991	acide 6 β -dihydrocornique	cp [279]
992	acide 6 α -dihydrocornique	cp [279]
993	dihydrocornine	cp [279], fl [305]
994	cornine	cp [277], fl [305], ko [277], nu [305]
995	hastatoside	nu [305]
996	acide loganique	ms [269]
997	loganine	ms [269], of [300]
998	monotropéine	cn [305] , su [309]
999	galioside	cn [305]
1000	géniposide	su [309]
1001	scandoside	cn [305]
1002	méthyle ester de scandoside	cn [305]
1003	lonicéroside	of [306]
1004	cornuside	ms [269], of [296]
1005	swéroside	ms [269], of [300]
1006	morroniside	of [307]
1007	7 α -O-éthylmorroniside	of [307]
1008	7 β -O-éthylmorroniside	of [307]
1009	7-O-butylmorroniside	of [299]
1010	acétate de morroniside	of [300]
1011	cornuside II	of [307]

^a Le code des espèce est détaillé tableau 7 (p. 64).

Tableau 20 : Autres terpènes identifiés dans le genre *Cornus*

No.	Nom	Espèce ^a
cadinane		
1012	7-hydroxycadalène	cp [278]
tirucallane		
1013	cornusaltérine C	wa [312]
1014	cornusaltérine B	wa [312]
1015	cornusaltérine A	wa [312]
1016	(-)-leucophyllone	wa [312]
1017	cornusaltérine J	wa [312]
1018	cornusaltérine G	wa [312]
1019	cornusaltérine H	wa [312]
1020	cornusaltérine D	wa [312]
1021	cornusaltérine I	wa [312]
1022	cornusaltérine E	wa [312]
1023	cornusaltérine F	wa [312]
1024	cornusaltérine K	wa [312]
1025	3 β -acétoxy-21,23-époxytirucalla-7,24-diène	cp [314]
1026	déoxyflindissone	cp [314], wa [312]
1027	cornusaltérine L	wa [312]
ursane		
735	acide ursolique	of [268]
1028	aldéhyde ursolique	ko [286]
lupane		
1029	lupéol	cp [278]
1030	bétulinol	cp [278]
1031	épi-bétulinol	cp [278]
1032	acide bétulinique	cp [278], fl [315]
1033	acide épi-bétulinique	cp [278]
oleanane		
1034	acide maslinique	cp [278]
1035	acide arjunolique	cp [278]
autre		
1036	friedéline	cp [278]

^a Le code des espèce est détaillé tableau 7 (p. 64).

Tableau 21 : Stérols identifiés dans le genre *Cornus*

No.	Nom	Espèce ^a
stigmastane		
858	β -sitostérol	cp [278]
860	3-O- β -D-glucopyranoside de β -sitostérol	cp [278]
1037	stigmastanone	cp [278]
1038	6 α -hydroxystigmast-4-én-3-one	ko [316]
1039	6 β -hydroxystigmast-4-én-3-one	ko [316]
spirostane		

No.	Nom	Espèce ^a
1040	smilagénine	cp [278]
1041	3-O-β-D-galactopyranoside de sarsapogénine	fl [317]
1042	3-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→2)-β-D-galactopyranoside] de sarsapogénine	fl [317]
1043	3-O-[β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-galactopyranoside] de sarsapogénine	fl [317]

^a Le code des espèce est détaillé tableau 7 (p. 64).

Tableau 22 : Autres composés dans le genre *Cornus*

No.	Nom	Espèce
acide gras		
889	acide tétracosanoïque	cp [278]
1044	acide triacontanoïque	cp [278]
alkane		
1045	hentriacontane	cp [278]
1046	triacontanol	cp [278]
autre		
1047	acide tartarique	ms [269]
1048	acide malique	ms [269]
1049	diméthylmalate	of [319]
1050	acide citrique	ms [269]
1051	halléridone	co [318], st [305]
1052	cornoside	st [305]
1053	<i>cis</i> -2,5-dicarboxylate de diméthyltétrahydrofurane	of [297]
1054	5-hydroxyméthylfurfural	of [319]
1055	(<i>R</i>)-4-méthyl-tétrahydro-2 <i>H</i> -pyran-2-one	wa [320]
1056	waltérolactone C	wa [320]
1057	waltérolactone D	wa [320]
1058	4-méthyl-5,6-dihydro-pyran-2-one	wa [320]
1059	waltérolactone A	wa [320]
1060	waltérolactone B	wa [320]

^a Le code des espèce est détaillé tableau 7 (p. 64).

CHAPITRE 3

**ABIBALSAMINS A ET B, DEUX NOUVEAUX TÉTRATERPÈNES DE
L'OLÉORÉSINE DU SAPIN BAUMIER (*ABIES BALSAMEA*)**

Titre original :

**ABIBALSAMINS A AND B, TWO NEW TETRATERPENOIDS FROM *ABIES
BALSAMEA* OLEORESIN**

**Serge Lavoie,¹ Jean Legault,¹ Charles Gauthier,^{1,2} Vakhtang Mshvildadze,¹ Sylvain Mercier¹
and André Pichette^{1,*}**

¹ *Université du Québec à Chicoutimi, Chaire de Recherche sur les Agents Anticancéreux d'Origine Naturelle, Laboratoire d'Analyse et de Séparation des Essences Végétales (LASEVE), Département des Sciences Fondamentales, 555 boul. de l'Université, Chicoutimi (Québec), Canada, G7H 2B1*

² *Université de Poitiers, Institut de Chimie, IC2MP, UMR-CNRS 7285, 4 rue Michel Brunet, 86022 Poitiers, France*

**Corresponding author. Tel.: +1-418-545-5011; fax: +1-418-545-5012; e-mail: andre_pichette@uqac.ca*

(Article publié dans Organic Letters 2012, 14(6), 1504-1507)

Keywords : Tetraterpenoids; lanostane; Diels-Alder; *Abies balsamea*, Isolation; NMR

1. CONTRIBUTION DES AUTEURS

L'auteur principal de cet article a déterminé la structure des composés par RMN en plus de rédiger la plupart des sections de cet article. Charles Gauthier a participé de près à la rédaction du manuscrit en plus de procéder à la soumission en ligne. Vakhtang Mshvildadze et Sylvain Mercier ont isolé les molécules de cet article. André Pichette et Jean Legault ont effectués une lecture attentive et ont permis l'amélioration de l'article grâce à leurs commentaires. Également, ils sont respectivement directeur et co-directeur de cette thèse.

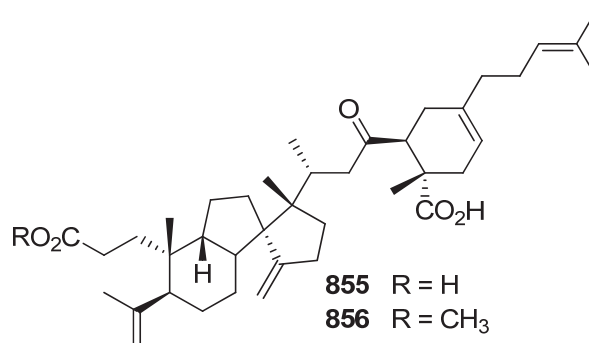
2. REMARQUES

La numérotation originale des molécules de ce chapitre a été modifiée pour suivre celle établie depuis le chapitre 2. La correspondance est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 23 : Correspondance des numéros de molécules avec l'article original

Numéro dans l'article original	Numéro utilisé dans ce document
1	855
2	856
3	838

3. RÉSUMÉ GRAPHIQUE



4. RÉSUMÉ

L'abibalsamine A (**855**) et l'abibalsamine B (**856**) sont deux tétraterpènes isolés à partir de l'oléorésine du sapin baumier (*Abies balsamea*) et qui présentent un squelette moléculaire relativement inédit. En effet, celle-ci s'explique probablement par une cycloaddition de Diels-Alder [4 + 2] entre une molécule de type 3,4-sécolanostane et le β -myrcène (**299**). Leurs structures ont été déterminées suite à des analyses poussées en RMN 2D ainsi que grâce à la spectroscopie infrarouge (IR) et la spectrométrie de masse (MS). La configuration absolue du composé **855** a été déterminée par diffraction des rayons X sur un monocristal. Les deux composés présentent une activité cytotoxique significative envers des cellules cancéreuses.

5. ABSTRACT

Abibalsamins A (**855**) and B (**856**), two unprecedented tetraterpenoids featuring a 3,4-seco-rearranged lanostane system fused with a β -myrcene lateral chain via a [4 + 2] Diels-Alder cycloaddition, were isolated from the oleoresin of *Abies balsamea*. Their structures were elucidated by means of extensive 2D NMR, IR, and MS spectroscopy analyses. The absolute configuration of **855** was determined by single-crystal X-ray diffraction. Both compounds exhibited significant cytotoxic activity against cancer cell lines.

6. INTRODUCTION

The genus *Abies* (Pinaceae) consists of 46 species, which are mainly distributed in temperate and boreal regions of North and Central America, Europe, Asia, and North Africa [337]. Previous investigations on the chemical composition of firs (*Abies*) led to the identification of several secondary metabolites such as triterpenoids, flavonoids, stilbenes, chalcones, and lignans, some of them exhibiting pharmaceutically relevant biological activities [49, 50].

Balsam fir *Abies balsamea* (L.) Mill. is widely distributed in the eastern part of Canada. Traditionally, it has been used as an antiseptic, tuberculosis remedy, and venereal aid [338]. Balsam fir, like other true firs, is characterized by the presence of blisters on the surface of young bark that contain an aromatic liquid called the cortical oleoresin. Oleoresin is known as a complex mixture of mono-, sesqui-, di-, and triterpenoids [130, 157, 181, 196]. Aboriginal people in Canada have employed fir oleoresin as a vulnerary, although nowadays its main field of utilization is as a cement for lenses and as mounting medium in microscopy [339].

In the course of our research program aiming at the isolation and identification of bioactive substances from plant species of Québec's boreal forest [14, 21, 23], we have become interested in studying the constituents of *A. balsamea* [9, 14, 340, 341]. This work led to the isolation of two new tetraterpenoids, abibalsamins A (**855**) and B (**856**), which feature an unusual 3,4-seco-rearranged lanostane triterpene fused with a β -myrcene moiety. The closely related abiesonic acid (**838**) [220] was isolated as well. Here, we report the isolation, structural elucidation, and absolute configuration of the new compounds **855** and **856** (figure 59) based on spectroscopic data, X-ray crystallographic analysis, and comparison with literature data.

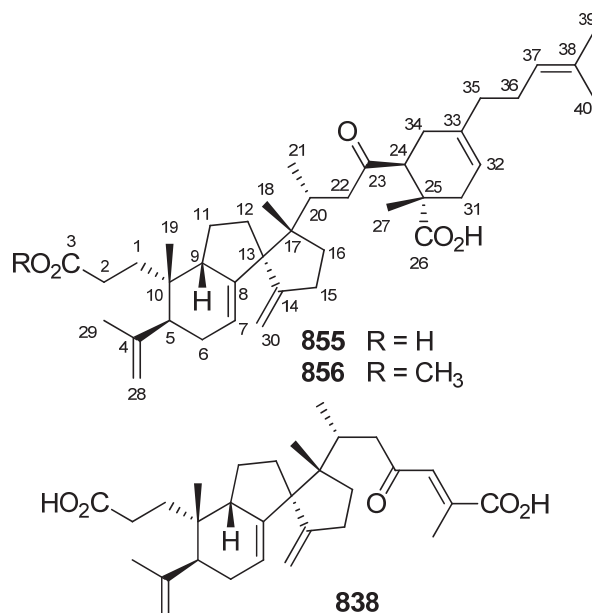


Figure 59: Structures of abibalsamins A (**855**) and B (**856**), and the related abiesonic acid (**838**)

7. RESULTS AND DISCUSSION

The oleoresin of *A. balsamea* (500 g)¹⁰ was directly subjected to silica gel column chromatography eluting with hexanes/EtOAc as a gradient (100:0 to 93:7) and then MeOH. Both hexanes/EtOAc 93:7 and MeOH fractions were combined and concentrated under reduced pressure (75 g). A portion of the extract (60 g) was further fractionated by silica gel using a gradient of hexanes/EtOAc, affording three subfractions A-C. Subfraction B was purified by silica gel with hexanes/EtOAc (3:1), giving five other subfractions A'-E'. Repeated column chromatography of subfraction C' on C₁₈ reversed-phase with H₂O/MeOH (1:4 to 0:1) followed by purification using preparative HPLC yielded compounds **855** (44.6 mg) and **856** (13 mg). Crystals of **855** were obtained by recrystallization with EtOH. Purification of subfraction E' on a polyamide column followed by preparative HPLC separation yielded **838** (10 mg), which was identified as abiesonic acid after spectral characterization (IR, NMR, MS) [220]. This compound has been thoroughly described in literature in the form of a dimethyl ester [196, 224].

¹⁰ Oleoresin was recollected by M. Marcel Pichette in summer 2007 at Saguenay, Québec, Canada. A specimen of the scored tree was identified by M. Patrick Nadeau and submitted to herbium Louis-Marie at Université Laval (QFA0579436)

Compound **855**, $[\alpha]_D^{20} -24.8$ (c 0.9, CHCl_3), showed a pseudomolecular ion peak at m/z 619.4348 $[\text{M} + \text{H}]^+$ in the HRESIMS suggesting the molecular formula $\text{C}_{40}\text{H}_{58}\text{O}_5$. An IR absorption band at 1702 (s) cm^{-1} implied the presence of carbonyl functionality. Analysis of ^{13}C NMR data and HSQC spectrum revealed the presence of seven methyls, twelve sp^3 methylenes, four sp^3 methines, four sp^3 quaternary carbons, two sp^2 methylenes, three sp^2 methines, and eight sp^2 quaternary carbons. A close comparison of the carbon chemical shift of **855** with abiesonic acid (**838**) suggested a 3,4-seco-rearranged lanostane system with a lateral chain constituted of an additional 6-membered ring. Analysis of the COSY spectrum revealed four spin systems (figure 60) on the lateral chain which were connected by HMBC cross-peaks from H_3 -21 to C-17, C-20, and C-22; from H_2 -22 to C-23; from H-24 to C-23; from H_3 -27 to C-24, C-25, C-26, and C-31; from H-32 to C-26 and C-35; and from H_3 -39 and H_3 -40 to C-38 and C-37.

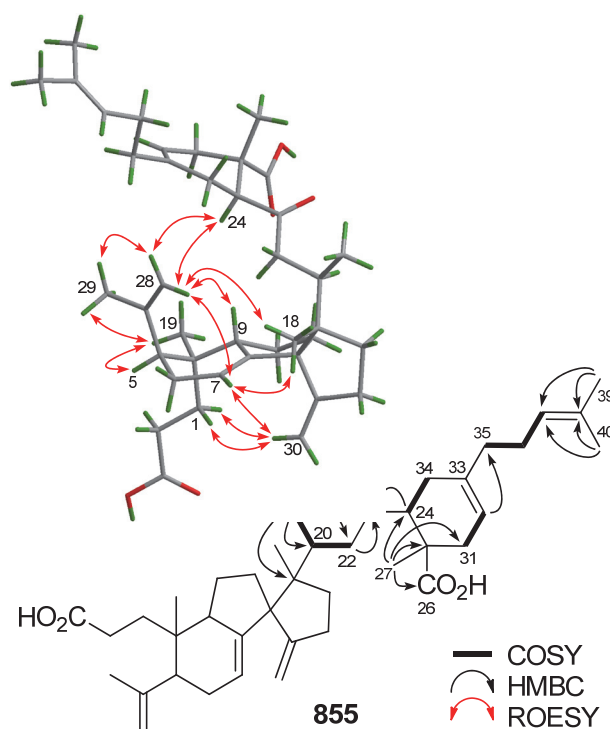


Figure 60: Selected ^1H - ^1H COSY, HMBC, and ROESY correlations for compound **855**

The relative stereochemistry was established with the ROESY spectrum where cross-peaks from H-28Z to H-9 and from H_3 -19 to H-9 and H_3 -29 were observed (figure 60). These facts indicated that H-5, Me-19, and H-9 are positioned α , β and β , respectively. Other correlations were observed between H_3 -18/H-7 and H-30/H-1 suggesting that ring D is connected in such a way that C-17 is β -

oriented and Me-18 is also β . The stereochemistry of the lateral chain could not be established unambiguously with the ROESY spectrum. Single-crystal X-ray diffraction analysis was carried out in order to confirm the structure of **855** (figure 61). The absolute configuration was determined by Flack's method with Flack's parameter determined as 0.0(2) [342]. The X-ray structure demonstrated that the chiral centers in **855** were 5*S*, 9*S*, 10*S*, 13*R*, 17*S*, 20*R*, 24*S*, and 25*S*. Furthermore, the ROESY correlation between H-28*Z* and H-24 could be better understood since the measured separation distance was 2.88 Å. On the basis of these spectroscopic evidence, the structure of **855** was assigned as (13*R*,17*S*,24*S*,25*S*)-24,25-[2-(4-methylpent-3-enyl)but-2-ene-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-seco-17,13-friedo-8(14→13)*abeo*-9 β H-lanost-4(28),7,14(30)-triene-3,26-dioic acid and named abibalsamin A¹¹.

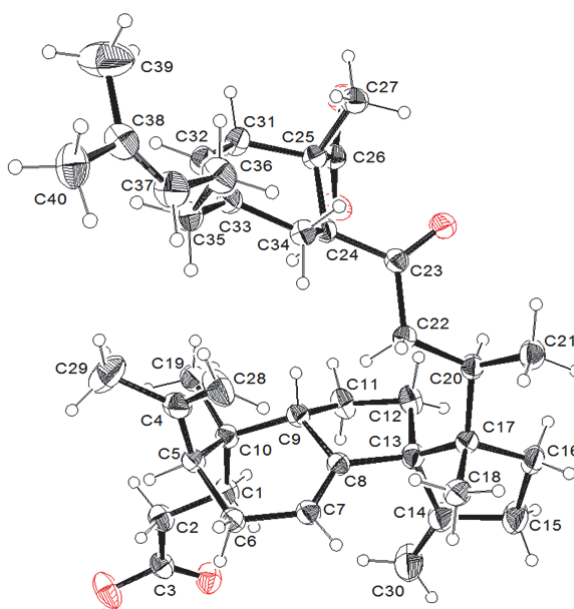


Figure 61: X-ray structure of abibalsamin A (**855**)

Compound **856**, $[\alpha]_D^{20} -44.5$ (*c* 1.0, CHCl₃), showed a pseudomolecular ion peak at *m/z* 633.4514 $[M + H]^+$ in the HRESIMS suggesting the molecular formula C₄₁H₆₀O₅. IR absorption bands at 1737 and 1708 (s) cm⁻¹ implied the presence of carbonyl functionalities. Comparison of the ¹H and ¹³C NMR spectra with those of compound **855** revealed that they differ only by an additional methyl group linked at one of the carboxylic functionalities (table 24). An upfield shift at C-3 (6.4 ppm) for

¹¹ Abibalsamin A (**855**): white crystals (EtOH), $[\alpha]_D^{20} -24.8$ (*c* 0.9, CHCl₃); IR (film) ν_{\max} 2960, 1742, 1702, 1460, 1376, 1295, 1217, 1160, 897, 756 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) and ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) data, see Table 1; HR-ESI-MS *m/z* 619.4348 $[M + H]^+$ (calcd for C₄₀H₅₉O₅, 619.4357).

856 along with an HMBC correlation between the new OCH₃ group and C-3 was observed and allowed us to assign the structure of **856**, named abibalsamin B¹², as (13*R*,17*S*,24*S*,25*S*)-24,25-[2-(4-methylpent-3-enyl)-but-2-ene-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-seco-17,13-friedo-8(14→13)-abeo-9 β H-lanost-4(28),7,14(30)-diene-3,26-dioic acid 3-methyl ester.

¹² Abibalsamin B (**856**): white amorphous solid, $[\alpha]_D^{20}$ -44.5 (c 1.0, CHCl₃); IR (film) ν_{\max} 2958, 1737, 1708, 1435, 1375, 1294, 1193, 1172, 896, 756 cm⁻¹; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) and ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) data, see Table 1; HR-ESI-MS m/z 633.4514 [M + H]⁺ (calcd for C₄₁H₆₁O₅, 633.4514).

Table 24: NMR Data of Compounds **855** and **856** (δ in ppm, J in Hz)

no.	855		856	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	1.68, m (2H)	29.7	1.63, m; 1.76, m	30.7
2	2.34, m (2H)	28.7	2.31, m (2H)	29.3
3	-	181.3	-	174.9
4	-	149.4	-	149.3
5	2.05, m	43.9	2.07, m	44.0
6	2.14, m; 2.34, m	31.1	2.14, m; 2.39, m	31.0
7	5.43, br s	122.2	5.45, br s	122.1
8	-	144.0	-	143.7
9	2.15, m	49.2	2.17, m	49.2
10	-	37.3	-	37.0
11	1.34, m; 1.67, m	22.4	1.39, m; 1.64, m	22.5
12	1.26, m; 1.66, m	31.3	1.31, m; 1.75, m	31.2
13	-	63.6	-	63.5
14	-	161.7	-	161.5
15	2.35, m; 2.47, m	28.0	2.36, m; 2.47, m	27.9
16	1.54, m (2H)	36.5	1.56, m (2H)	36.4
17	-	50.5	-	50.4
18	0.87, s	18.0	0.89, s	18.0
19	0.93, s	25.0	0.94, s	24.9
20	2.31, m	33.1	2.33, m	33.9
21	0.81, d (6.5)	17.0	0.80, d (6.4)	16.6
22	2.12, m; 2.36, m	44.6	2.14, m; 2.30, m	44.7
23	-	211.5	-	211.4
24	3.12, dd (12.4, 5.1)	50.4	3.08, dd (11.8, 5.4)	50.4
25	-	42.5	-	42.3
26	-	185.0	-	183.6
27	1.29, s	15.7	1.25, s	16.1
28	Z 4.92, br s; E 4.82, s	111.7	4.83, s (2H)	111.9
29	1.78, s	26.5	1.77, s	26.3
30	E 4.76, s; Z 4.67, br s	106.8	E 4.76, s; Z 4.72, br s	106.7
31	2.01, m; 2.28, m	38.1	2.05, m; 2.33, m	37.6
32	5.39, d (3.8)	118.8	5.39, br s	118.9
33	-	135.8	-	135.4
34	1.87, m; 2.22, m	29.0	1.87, m; 2.27, m	28.7
35	2.06, m (2H)	37.1	2.03, m; 2.08, m	37.1
36	2.10, m (2H)	26.3	2.09, m (2H)	26.3
37	5.07, t (6.7)	123.7	5.06, t (5.9)	123.8
38	-	131.9	-	131.9
39	1.68, br s	25.7	1.68, br s	25.7
40	1.61, br s	17.8	1.60, br s	17.8
Me	-	-	3.67, s	51.6

Although some marine species have been shown to contain polycyclic tetraterpenoids [244, 343, 344], the isolation of noncarotenoid C₄₀ compounds from plants is very scarce [245]. A plausible biosynthetic pathway of abibalsamins A (**855**) and B (**856**) is proposed in figure 62. In opposition to 'true' tetraterpenes such as the carotenoids, which are formed by a head-to-head condensation of two geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP) units [243], it is likely that abibalsamins **855** and **856** would come from a different biosynthetic route. Since abiesonic acid (**838**), a 3,4-seco-rearranged lanostane-type triterpenoid [214], and the monoterpene β -myrcene have been isolated from *A. balsamea* [119], it seems reasonable to propose that abibalsamin A (**855**) would be formed by an enzyme-catalyzed [4 + 2] Diels-Alder-like cycloaddition between **838** and β -myrcene. Abibalsamin B (**856**) would then be obtained by the esterification of the C-3 carboxylic acid function in **855**. Such a type of Diels-Alder-like biosynthetic reaction has already been suggested for dimeric triterpenoids [345] and tricyclic spirolactones [346], to name a few recent examples.

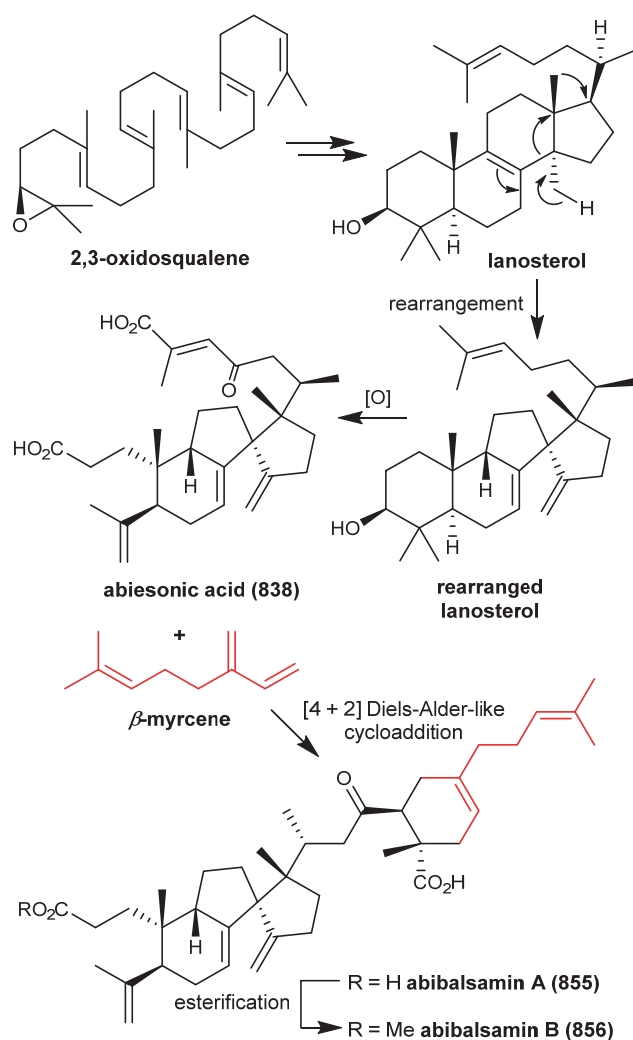


Figure 62: Plausible Biosynthetic Pathway of **855** and **856**

The *in vitro* antiproliferative activities of compounds **838**, **855** and **856** against lung carcinoma (A549), colorectal adenocarcinoma (DLD-1), and normal skin fibroblast (WS1) human cell lines were evaluated using the resazurin reduction test as previously described [24]. The cytotoxicity results presented in table 25 are expressed as the concentration inhibiting 50% of the cell growth (IC_{50}). Etoposide was used as a positive control in this assay (IC_{50} 0.3-5 μM). The most cytotoxic compound was abibalsamin B (**856**) with IC_{50} values of 8.5 ± 0.7 and 15 ± 1 μM against A549 and DLD-1 cancer cell lines, respectively. Interestingly, abibalsamin A (**855**) selectively inhibits the growth of A549 cells (IC_{50} 22 ± 4 μM) compared to DLD-1 and WS1 ($IC_{50} > 100$ μM).

Table 25: Cytotoxic Activity of Compounds **838**, **855** and **856**^a

Cell lines	Compounds			
	838	855	856	Etoposide
A549	22 ± 3	22 ± 4	8.5 ± 0.7	0.3 ± 0.1
DLD-1	> 100	> 100	15 ± 1	1.0 ± 0.4
WS1	5 ± 1	> 100	14.7 ± 0.2	5 ± 1

^a IC₅₀ in µM.

8. EXPERIMENTAL SECTION¹³

8.1. General methods

Optical rotations $[\alpha]^{20}_D$ were measured on an Autopol IV polarimeter. FTIR spectra were recorded on a Perkin-Elmer SpectrumOne. For the purpose, the sample was deposited on a NaCl window using CHCl₃ solution and dried before analysis. The 1D and 2D NMR spectra (¹H-¹H COSY, TOCSY, HSQC, HMBC and ROESY) were performed using an Avance 400 Bruker spectrometer (400.13 MHz for ¹H, 100.61 MHz for ¹³C spectra) equipped with a 5 mm QNP-probe. All spectra were acquired in CDCl₃ and chemical shifts are reported in ppm (δ) relative to TMS. High resolution electrospray ionization mass spectra (HRESIMS) were obtained in positive mode from an Applied Biosystems/MDS Sciex QSTAR XL QqTOF MS system. HPLC-APCI MS (negative mode) were conducted on an Agilent 1100 series system consisting of a degasser, a quaternary pump, an automatic injector, a temperature-controlled column compartment, a diode array detector and a mass selective detector Agilent G1946 VL model equipped with an APCI source. Analytical separations were performed on a 6.0 × 250 mm Inertsil prep-ODS C18 reversed-phase column (10 µm of particle size) using H₂O:CH₃CN system, with pH water adjusted to 4 with formic acid (HPLC grade) to improve peak sharpness. Chromatographic conditions were the following: isocratic elution with H₂O pH 4:CH₃CN (30-70 to 5-95) at a flow rate of 0.8 ml/min and a column oven of 25 °C. Preparative HPLC separations (Agilent 1100) were carried out on a 20.0 × 250 mm Inertsil prep-ODS C18 column using multiple wavelength detector and an automatic fraction collector. The solvents were purchased from VWR (Canada). The TLC plates (aluminium sheets of ultra-pure silica gel 250 µm, with indicator F₂₅₄) and ultra-pure silica gel (40-63 µm with indicator F₂₅₄) were supplied from Silicycle (Canada). Polyamide CC-6 was purchased from Macherey-Nagel (Germany). Solvent systems for TLC analyses

¹³ Cette section se trouve dans les matériaux supplémentaires, disponible gratuitement sur internet à l'adresse pubs.acs.org/doi/suppl/10.1021/ol300237f/suppl_file/ol300237f_si_001.pdf. Le reste des informations de ce document est reproduit à la page 167.

were: a) hexanes-EtOAc (3:1), b) CHCl₃-EtOAc (80:1 to 20:1), c) CHCl₃-MeOH (40:1) developing with H₂SO₄ 20% in MeOH followed by heating at 100 °C.

8.2. Isolation of compounds **838**, **855** and **856**

500 g of *Abies balsamea* (L.) Mill. (Pinaceae) oleoresin were directly fractionated by silica gel column using hexanes:EtOAc (100:0 → 93:7) as eluant and finally washed by MeOH. The fraction obtained with hexanes:EtOAc 93:7 was combined with MeOH fraction and the resulting solution was evaporated under reduced pressure to obtain 75 g of a brown gum. A portion of this extract (60 g) was further fractionated by silica gel chromatography eluting with hexanes:EtOAc 3:1 (A, 14 g), hexanes:EtOAc 2:1 (B, 19 g), hexanes:EtOAc 1:1 and finally washed with MeOH (C, 21.5 g). Subfraction B was fractionated by silica gel column with hexanes:EtOAc (3:1) giving five other subfractions A'-E'. Repeated column chromatography of subfraction C' on C18 reversed-phase with H₂O:MeOH (1:4 to 0:1) followed by purification by preparative HPLC yielded compounds **855** (44.6 mg) and **856** (13 mg). Crystals of **855** were obtained by recrystallization from EtOH. Purification of E' on Polyamide column followed by preparative HPLC separation yielded pure **838** (10 mg).

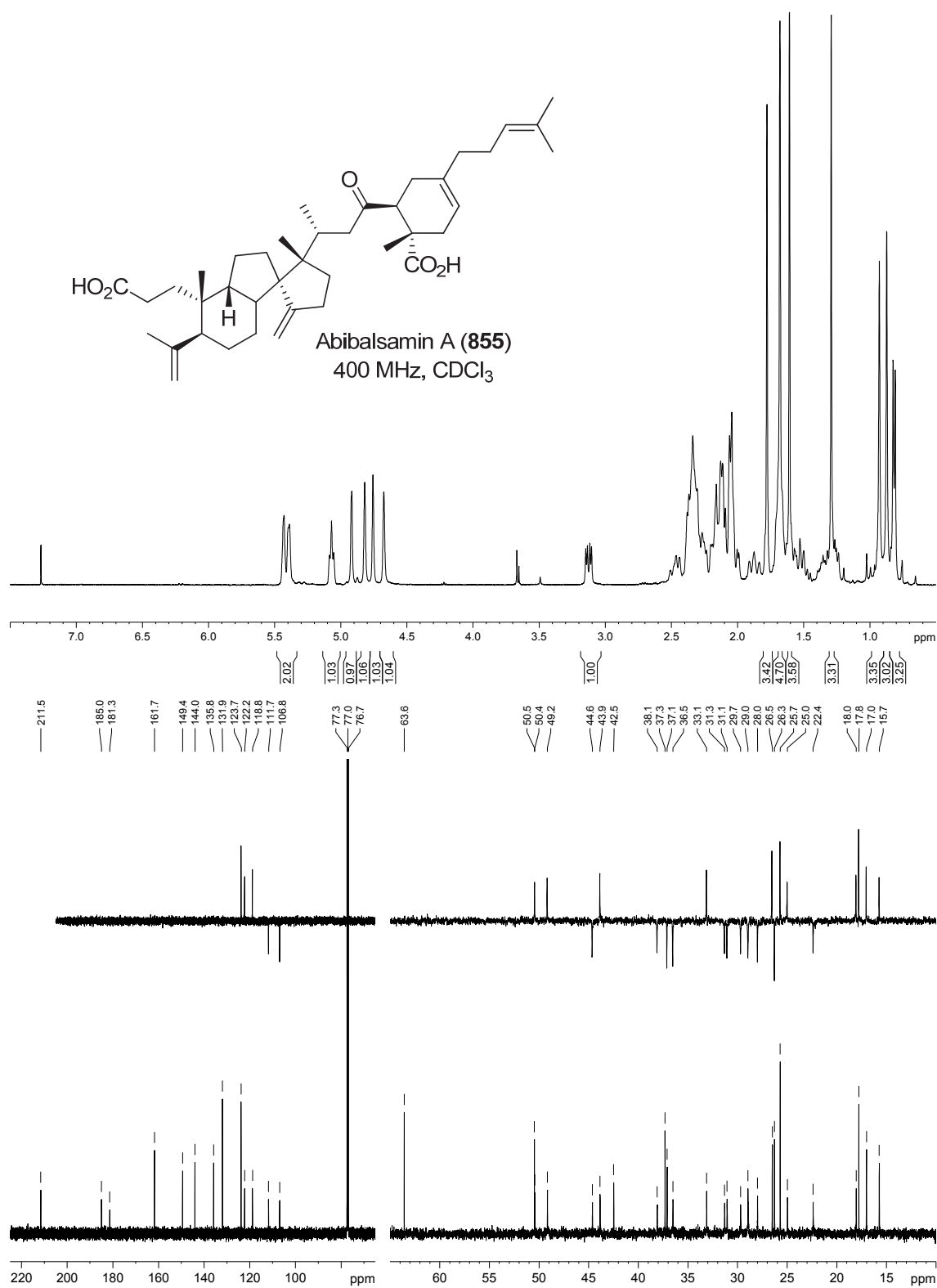
8.3. X-ray crystallography of **855**

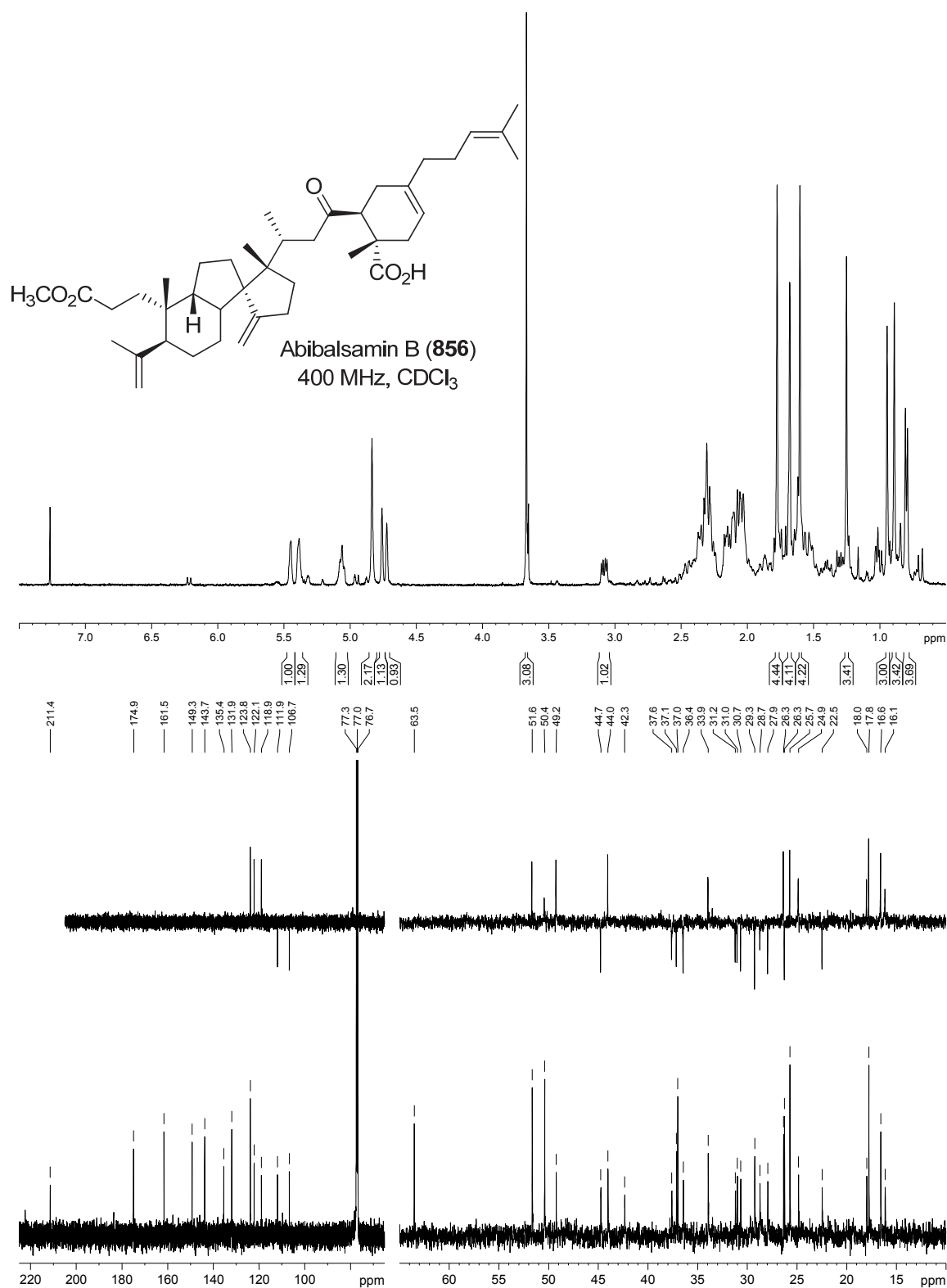
A white crystal was obtained from a solution of ethanol, orthorhombic space group P2₁2₁2₁, a = 8.1096(4) Å, b = 20.4473(9) Å, c = 22.0303(10) Å, V = 3653.1(3) Å³, Z = 4, R = 0.055 (F² > 2σ), R_w = 0.1150 (all F²) for 7161 unique data having 2θ < 145.2° and 416 refined parameters.

9. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge the “Chaire de recherche sur les agents anticancéreux d'origine naturelle” and NSERC for funding.

ANNEXE F : SUPPORTING INFORMATION





CHAPITRE 4
TRITERPÈNES DE TYPE LANOSTANE ET CYCLOARTANE DANS
L'OLÉORÉSINE DU SAPIN BAUMIER (*ABIES BALSAMEA*)

Titre original

LANOSTANE- AND CYCLOARTANE-TYPE TRITERPENOIDS FROM *ABIES*
***BALSAMEA* OLEORESIN**

Serge Lavoie,^{1,‡} Charles Gauthier,^{1,2,‡} Jean Legault,¹ , Sylvain Mercier,¹ Vakhtang
Mshvildadze¹ and André Pichette^{1,*}

¹ *Université du Québec à Chicoutimi, Chaire de Recherche sur les Agents Anticancéreux d'Origine Végétale, Laboratoire d'Analyse et de Séparation des Essences Végétales (LASEVE), Département des Sciences Fondamentales, 555 boul. de l'Université, Chicoutimi (Québec) G7H 2B1, Canada*

² *Université de Poitiers, Institut de Chimie IC2MP, UMR-CNRS 7285, 4 rue Michel Brunet, 86022 Poitiers, France*

** Corresponding author. E-mail: andre_pichette@uqac.ca*

‡ Equal contributors

(Article publié dans Beilstein Journal of Organic Chemistry 2013, 9, 1333-1339)

Keywords : *Abies balsamea*; cycloartane; lanostane; oleoresin; triterpenoids

1. CONTRIBUTION DES AUTEURS

Les auteurs principaux de cet article, Serge Lavoie et Charles Gauthier ont contribué de manière égale à la rédaction de cet article. La structure des molécules a été déterminée par Serge Lavoie suite à l'analyse des spectres RMN. Vakhtang Mshvildadze et Sylvain Mercier ont isolé les molécules de cet article. André Pichette et Jean Legault ont effectués une lecture attentive et ont permis l'amélioration de l'article grâce à leurs commentaires. Également, ils sont respectivement directeur et co-directeur de cette thèse.

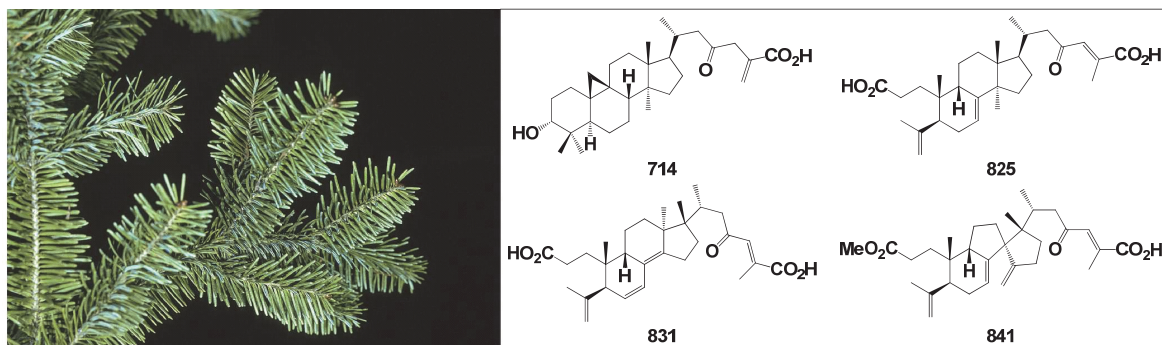
2. REMARQUES

La numérotation originale des molécules de ce chapitre a été modifiée pour suivre celle établie depuis le chapitre 2. La correspondance est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 26 : Correspondance des numéros de molécules avec l'article original

Numéro dans l'article original	Numéro utilisé dans ce document
1	841
2	831
3	825
4	714
5	712
6	838
7	760
8	828
9	824
10	826
11	832
12	823
13	680
14	573
15	620
16	632
17	666
18	655

3. RÉSUMÉ GRAPHIQUE



4. RÉSUMÉ

Une analyse phytochimique de l'oléorésine du sapin baumier (*Abies balsamea*) a permis l'isolation de quatre nouveaux triterpènes de type 3,4-sécolanostane (**825**, **831** et **841**) et cycloartane (**714**) et de quatorze autres composés terpéniques. La caractérisation structurale est basée sur l'analyse détaillée des spectres RMN 1D et 2D, infrarouge et massique puis validée par une comparaison avec la littérature. L'activité biologique *in vitro* des composés isolés a été évaluée sur des cellules humaines cancéreuses (A549, DLD-1) et saines (WS1) et sur des cellules bactériennes (*E. coli* et *S. aureus*). L'acide abiésinique (**838**) a montré une faible cytotoxicité contre les cellules A549 ($IC_{50} = 22 \mu M$) tandis que les composés **714** et **841** se sont montrés légèrement actifs contre *S. aureus* (CMI = 25 μM).

5. ABSTRACT

Phytochemical analysis of *A. balsamea* oleoresin led to the isolation of three new 3,4-secolanostane triterpenoids (**825**, **831** and **841**), one new cycloartane triterpenoid (**714**) along with fourteen known terpenoids. Structure determinations were based on extensive 1D/2D NMR, IR and MS spectroscopic analyses, and comparison with literature data. The isolated compounds were evaluated *in vitro* for their cytotoxicity against human cell lines (A549, DLD-1, WS1) and their antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus*. Abiesonic acid (**838**) exhibited weak cytotoxic activity against A549 ($IC_{50} = 22 \mu M$) while compounds **714** and **841** were weakly active against *S. aureus* (MIC = 25 μM).

6. INTRODUCTION

The genus *Abies* (Pinaceae) comprises 46 species of evergreen conifers [337]. Most of them are found in temperate and boreal regions of the northern hemisphere. The first phytochemical investigation of *Abies* species was undertaken 75 years ago by Takahashi [347]. Since then, more than 277 secondary metabolites have been isolated, and mainly identified as terpenoids, flavonoids and lignans [50]. Balsam fir *Abies balsamea* (L.) Mill., a popular Christmas tree in Canada, has been used traditionally by North American aboriginal people as an antiseptic, tuberculosis remedy, and venereal aid [338]. In recent years, we have become interested in studying the bioactive constituents of *A. balsamea*. Our work allowed the identification of antibacterial sesquiterpenoids, active against *S. aureus*, from balsam fir essential oil [13]. We also isolated two cytotoxic tetraterpenoids from the cortical oleoresin of the tree bark, featuring an unprecedented C₄₀ scaffold [198]. Herein, we describe the further phytochemical study of *A. balsamea* oleoresin, which led to the isolation and structure elucidation of three 3,4-seco-lanostane-type triterpenoids (**825**, **831** and **841**), one cycloartane-type triterpenoid (**714**) and fourteen known terpenoids. The antibacterial (*E. coli* and *S. aureus*) and cytotoxic (A549, DLD-1 and WS1) activities of the isolated compounds are also reported.

7. RESULTS AND DISCUSSION

The oleoresin of *A. balsamea* (1st lot) was fractionated by silica gel column chromatography with hexanes/EtOAc (100:0 → 93:7) and MeOH as eluent. Both hexanes/EtOAc 93:7 and MeOH fractions were combined and concentrated under reduced pressure. Purification of this extract using a combination of silica gel or polyamide column chromatography and reversed phase C₁₈ HPLC resulted in the isolation of three new (**825**, **831** and **841**) and six known terpenoids (figure 63). In another experiment, oleoresin (2nd lot) was triturated with hexanes. The precipitate was subjected to successive silica gel column chromatography followed by reversed phase C₁₈ HPLC to give one new (**714**) as well as three known terpenoids. Similarly, purification of the filtrate afforded five known terpenoids. Based on their spectroscopic data (IR, MS and NMR) and comparison with literature values, the structures of the known compounds were elucidated as awashishinic acid (**712**) [348], abiesonic acid (**838**) [198], firmanoic acid (**760**) [222], (22*Z*)-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),7,22,24-tetraen-23,26-olid-3-oic acid (**828**) [165], (25*R*)-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),7-diene-3,26-dioic acid (**824**) [215], abiesolidic acid (**826**) [215, 221], (23*R*,25*R*)-3,4-seco-17,14-friedo-9 β H-lanosta-4(28),6,8(14)-trien-26,23-olid-3-oic acid (**832**) [215], (24*E*)-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),7,24-triene-

3,26-dioic acid (**823**) [205], abiesanordine C (**680**) [184], methyl 13-oxo-podocarp-8(14)-en-15-oate (**573**) [349], 15-hydroxydehydroabietic acid (**620**) [350], methyl 15-hydroxydehydroabietate (**632**) [351], (12*E*)-8-hydroxy-15-nor-12-labden-14-al (**666**) [352] and 8-hydroxy-14,15-dinor-11-labden-13-one (**655**) [184, 353] (figure 63). ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data of known compounds (**573**, **620**, **632**, **655**, **666**, **680**, **712**, **760**, **823**, **824**, **826**, **828**, **832** and **838**) are given in Supporting Information (p. 206).

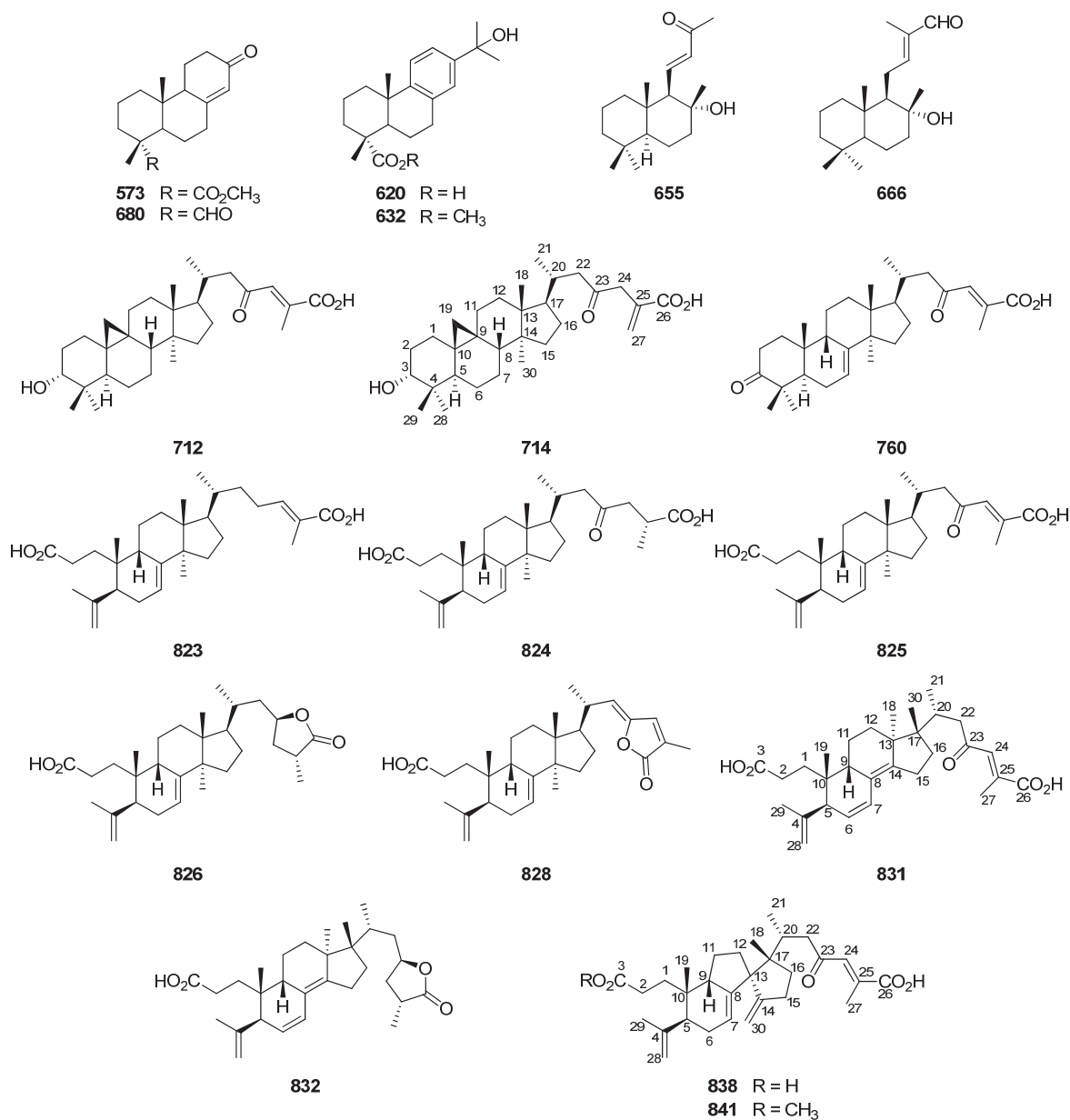


Figure 63: Structures of isolated compounds

Compound **841** was isolated as a white amorphous powder. Its molecular formula was established as $C_{31}H_{44}O_5$ from the $[M + H]^+$ peak at m/z 497.3261 (calcd 497.3262) in the positive HRESIMS, indicating ten degrees of unsaturation. The IR spectrum displayed strong absorption bands at 1692 and 1736 cm^{-1} indicative of carboxylic acid functionalities. The ^{13}C NMR and DEPT spectroscopic data (table 27) exhibited 31 carbons including one carbonyl carbon at δ_C 202.4, and two carboxylic carbons at δ_C 172.4 and 174.8. The ^1H NMR data (table 28) exhibited six olefinic signals at δ_H 4.73 (s), 4.77 (s), 4.78 (s), 4.86 (s), 5.48 (dd, $J = 6.2, 3.1\text{ Hz}$) and 7.11 (br s), one methoxy methyl at δ_H 3.67 (s), four tertiary methyl at δ_H 0.90 (s), 0.92 (s), 1.75 (s) and 2.18 (s) and one secondary methyl at δ_H 0.85 (d, $J = 6.4\text{ Hz}$). Detail analysis of the above NMR information, together with ^1H - ^1H COSY, HSQC and HMBC analyses indicated that **841** shares the same structure with abiesonic acid (**838**), previously isolated from *A. balsamea* [198], but with an additional methoxy group. An HMBC cross-peak between this methyl signal and the carbon at δ_C 174.8 (C-3) allowed the assignment of compound **841** as (-)-rel-abiesonic acid 3-methyl ester.

Table 27: ^{13}C NMR spectroscopic data (100 MHz, CDCl_3) of compounds **714**, **825**, **831** and **841**

Position	714	825	831	841
1	27.5	28.8	28.3	30.5
2	28.5	29.2	29.8	29.2
3	77.1	180.8	181.6	174.8
4	39.5	149.7	145.6	149.2
5	41.1	45.3	50.6	44.0
6	21.1	29.7	127.0	30.9
7	25.6	118.0	125.2	122.4
8	48.0	146.3	125.4	143.4
9	19.7	38.6	39.4	49.5
10	26.5	36.3	37.0	36.9
11	26.2	18.5	19.6	22.5
12	32.8	33.8	32.0	31.2
13	45.4	43.8	47.4	63.5
14	49.0	51.7	146.2	160.9
15	35.4	34.0	23.9	27.8
16	28.3	28.5	36.3	36.1
17	52.2	53.1	49.1	50.2
18	18.1	21.7	21.9	17.7
19	29.8	24.1	21.8	24.7
20	32.9	33.3	35.1	33.8
21	19.3	19.5	15.9	16.4
22	50.0	51.9	48.9	48.3
23	207.6	202.4	202.5	202.4
24	46.1	134.4	133.0	134.9
25	133.9	139.3	140.4	138.7
26	170.8	172.8	173.4	172.4
27	130.5	13.9	14.0	14.0
28	25.8	112.0	115.6	111.9
29	21.2	26.0	24.8	26.1
30	19.3	27.5	15.8	106.9
OMe	—	—	—	51.7

Table 28: ^1H NMR spectroscopic data (400 MHz, CDCl_3) of compounds **714**, **825**, **831** and **841**

Position	δ_{H} (J in Hz)			
	714	825	831	841
1	1.85, m, 1.01, m	1.73, m, 1.60, m	1.60, m	1.74, m, 1.62, m
2	1.93, m, 1.64, m	2.32, m	2.31, m	2.30, m
3	3.48, t (2.4)	-	-	-
5	1.82, m	2.08, m	2.63, d (5.4)	2.08, m
6	1.48, m, 0.77, m	2.27, m, 1.99, m	5.39, dd (9.9, 5.5)	2.40, m, 2.13, m
7	1.30, m, 1.11, m	5.33, br s	6.22, d (10.0)	5.48, dd (6.2, 3.1)
8	1.54, m	-	-	-
9	-	2.59, m	2.43, m	2.06, m
11	2.00, m, 1.13, m	1.60, m	1.62, m	1.59, m, 1.40, m
12	1.62, m	1.83, m, 1.67, m	1.65, m	1.77, m, 1.32, m
15	1.31, m	1.52, m	2.41, m, 2.32, m	2.48, m, 2.37, m
16	1.87, m, 1.27, m	1.92, m, 1.26, m	1.73, m, 1.54, m	1.55, m
17	1.61, m	1.54, m	-	-
18	1.00, s	0.80, s	1.16, s	0.90, s
19	0.52, d (3.9), 0.35, d (3.9)	0.86, s	0.87, s	0.92, s
20	2.02, m	2.03, m	2.24, m	2.39, m
21	0.88, d (6.8)	0.91, d (6.2)	0.80, d (6.5)	0.85, d (6.4)
22	2.56, dd (16.0, 2.1), 2.24, dd (16.1, 10.2)	2.64, m, 2.32, m	2.85, m, 2.16, br d (12.3)	2.49, m, 2.25, m
24	3.42, d (17.0), 3.36, d (17.1)	7.15, s	7.23, br s	7.11, br s
27	6.45, br s 5.73, br s	2.21, s	2.22, d (1.0)	2.18, s
28	0.95, s	4.88, s, 4.82, s	4.98, br s, 4.76, d (2.4)	4.86, s, 4.78, s
29	0.88, s	1.80, s	1.79, s	1.75, s
30	0.90, s	1.04, s	0.69, s	4.77, s, 4.73, s
OMe		-	-	3.67, s

Compound **831**, obtained as a white amorphous powder, possessed a molecular formula of $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_4$ with ten degrees of unsaturation based on the $[\text{M} + \text{H}]^+$ peak at m/z 483.3087 (calcd 483.3105) in the positive HRESIMS. The IR absorption bands showed the presence of carboxylic acid (1702 cm^{-1}) and olefin (1635 cm^{-1}) functionalities. The NMR spectroscopic data of **2** (table 27) displayed 30 carbon signals, which by the assistance of a DEPT experiment, were identified as six methyl, seven sp^3 methylene and three sp^3 methine groups, three sp^3 quaternary carbon atoms, one

sp^2 methylene and three sp^2 methine groups, and seven sp^2 quaternary carbon atoms. A ^1H - ^1H COSY experiment provided correlations from H₂-1 to H₂-2, H-6 to H-5 and H-7, H₂-11 to H-9 and H₂-12, H₂-15 to H₂-16 and H-20 to H₃-21 and H₂-22 (figure 64). Analysis of HMBC spectra indicated correlations from H₃-19 to C-1, C-5, C-9 and C-10; from H₃-29 to C-4, C-5 and C-28; from H-7 to C-8; from H₃-18 to C-12, C-13, C-14 and C-17; from H₃-30 to C-13, C-16, C-17 and C-20; from H₃-21 to C-17, C-20 and C-22; from H₂-22 and H-24 to C-23; and from H₃-27 to C-24, C-25 and C-26. The relative configuration of **831** was determined by analysis of a NOESY experiment, which provided correlations (figure 64) of H-5 to H₂-2; H-28Z to H-9; H-22a (δ_{H} 2.85) to H₃-18 and H₃-21; H₃-18 to H-22b (δ_{H} 2.16) and H-24; H-24 to H-20 and H-22b. These correlations indicated the α -orientation of H-5 and H₃-30 and the β -orientation of H-9, H₃-18 and H₃-19. All these facts suggested that compound **831** was strongly similar to cis-sibiric acid [227]. Since the chemical shift of H-24 in cis-sibiric acid (δ_{H} 6.15) was upfield of the signal for **841** (δ_{H} 7.11), 2 (δ_{H} 7.23), 6 (δ_{H} 7.13) and 7 (δ_{H} 7.07), this suggested that the trans-stereoisomer was isolated instead of the cis-one (See table 28 and Supporting Information, p. 206). This was further confirmed by NOESY correlation of H-24 to H-20 and H₃-30, but not to H₃-27. Consequently, the structure of **831** was determined as (-)-rel-(24*E*)-23-oxo-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),6,8(14),24-tetraen-3,26-dioic acid.

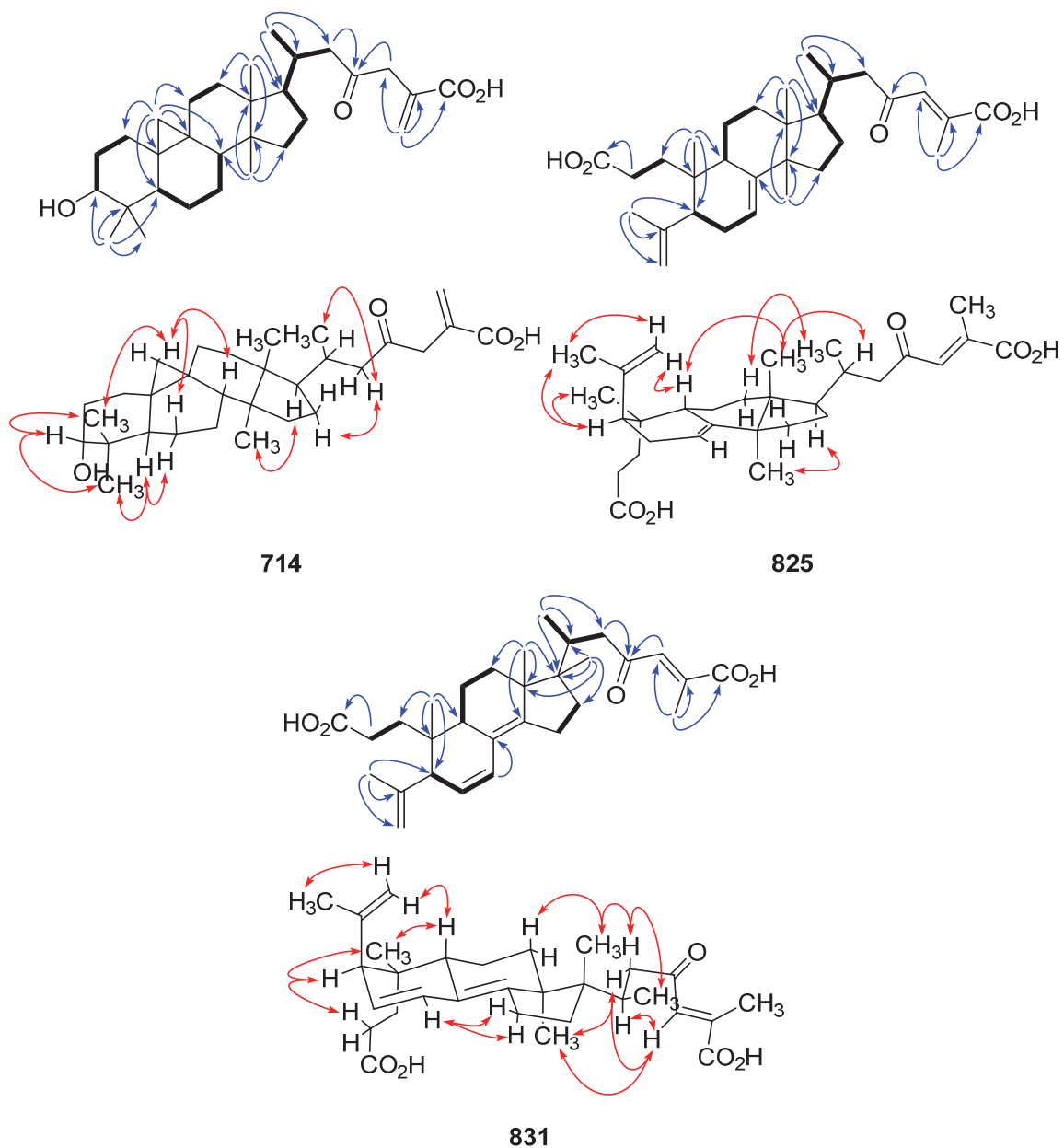


Figure 64: Selected COSY (—), HMBC (blue arrows) and NOESY (red arrows) correlations for compounds **714**, **825** and **831**

Compound **825**, a white amorphous powder, possessed a molecular formula of $C_{30}H_{44}O_5$ based on the $[M + H]^+$ peak at m/z 485.3250 (calcd 485.3262) in the positive HRESIMS, suggesting nine degrees of unsaturation. The IR spectrum implied the existence of carboxylic acid (1703 cm^{-1}) and olefin (1633 cm^{-1}) functionalities. The ^{13}C NMR spectroscopic data of **825** resembled those of (24*E*)-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),7,24-triene-3,26-dioic acid (**823**) [205] except for change at δ_{C} 33.3 (C-

20), 19.5 (C-21), 51.9 (C-22), 202.4 (C-23), 134.4 (C-24), 139.3 (C-25), 172.8 (C-26) and 13.9 (C-27) (See table 27 and Supporting Information, p. 206). The HMBC correlations from H-24 to C-23 indicated the presence of a ketone group at C-23 (figure 64). This conclusion was confirmed from the downfield δ_C of C-22 (+16.4) in comparison with **823**. The relative configuration was established with the NOESY spectrum (figure 64). Briefly, the configuration at C-5, C-9, C-10, C-13 and C-17 was determined by cross-peaks from H-28Z to H-9; H-5 to H₃-19 and H₃-29; H₃-18 to H-9 and H-20; H₃-30 to H-17; and H₃-21 to H₂-12. NOESY correlation between H-24 and H₃-27 was not observed, suggesting that the geometry of the C-24,25 double bond was *E*. This was confirmed by δ_H comparison of H-24 with that of **760**, **831**, **838** and **841** (See table 28 and Supporting Information, p. 206). On the basis of these spectroscopic evidences, the structure of **825** was assigned as (–)-rel-(24*E*)-23-oxo-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),7,24-triene-3,26-dioic acid.

The HRESIMS of **714**, isolated as a white amorphous powder, showed a pseudomolecular $[M + H]^+$ ion peak at m/z 471.3463, corresponding to the formula C₃₀H₄₆O₄ (calcd 471.3469), indicating eight degrees of unsaturation. The IR absorption bands at 3416, 1708 and 1633 cm⁻¹ suggested the presence of hydroxyl, carbonyl and olefin functionalities. The ¹³C NMR and DEPT-135 spectra of **714** showed signals for 30 carbons designated as five methyl; twelve methylene, including one alkene at δ_C 130.5; five methine, including one secondary alcohol at δ_C 77.1; and eight quaternary carbons, including those at δ_C 170.8 and 207.6 representing carboxylic and ketone carbonyls, respectively (table 27). The ¹H NMR spectrum showed two doublets at δ_H 0.35 (J = 3.9 Hz) and 0.52 (J = 3.9 Hz) characteristic of a cyclopropane ring (table 28), suggesting that **714** is a member of the cycloartanes, which is an important triterpenic family in the genus *Abies* [50]. In the ¹H-¹H COSY spectrum, correlations between H₂-2 to H₂-1 and H-3; H₂-6 to H-5 and H₂-7; H₂-7 to H-8; H₂-16 to H₂-15 and H-17; and H-20 to H₃-21 and H₂-22 were observed (figure 64). HMBC correlations from H₂-19 to C-1, C-5, C-8, C-9, C-10 and C-11 connected together three different fragments in the vicinity of the cyclopropyl group. Other correlations between H₃-18 to C-12, C-13, C-14 and C-17; H₃-21 to C-17, C-20 and C-22; H₂-27 to C-24, C-25 and C-26; H₃-28 and H₃-29 to C-3, C-4, C-5, C-28 and C-29; H₃-30 to C-8, C-13, C-14 and C-15; and H₂-22 and H₂-24 to C-23 were observed and completely assigned the carbon skeleton of the molecule (figure 64). The relative configuration was determined with the help of a 2D NOESY experiment showing correlations from H-19 β to H-6 β , H-8 and H₃-29; H-5 to H₃-28 and H-6 α ; H₃-30 to H-11 α and H-17; and H-22b to H-20 and H₂-16 (figure 64). The α -orientation of the hydroxy group at C-3 was deduced from the small coupling constant of

H-3 ($J = 2.4$ Hz), and from the NOESY correlations with both H₃-28 and H₃-29. Accordingly, the structure of compound **714** was defined as (+)-rel-3 α -hydroxy-23-oxocycloart-25(27)-en-26-oic acid.

The absolute stereochemistry of the new compounds (**714**, **825**, **831** and **841**) has not been determined experimentally. However, the previously described compounds **760**, **824**, **826** and **832** have been shown to possess the usual configuration for triterpenes [215, 221, 222]. The structures of many other triterpenes isolated from the genus *Abies* were also reported with this absolute configuration according to their X-ray crystallographic data [125, 202, 213].

The structure of compound **828** was reported by Xia *et al.* [165]. In their paper, the configuration at Δ_{22} was determined as *E* but it was not supported by any spectroscopic data. Since ^1H and ^{13}C NMR data obtained for **828** were identical to those reported by Xia within 0.01 and 0.1 ppm respectively (see Supporting Information File 1), we supposed that both molecules were the same. However, the geometry at Δ_{22} should be assigned to *Z* because of the clear NOESY correlation between H-22 and H-24. Interestingly, lanostane with *E* geometry at Δ_{22} has never been isolated so far. Moreover, triterpenes with this kind of side chain bearing an *E* configuration for Δ_{22} have only been reported by Guo *et al.* [354, 355]. During their work on *Schisandra* spp., they isolated many nortriterpenes having both Δ_{22} configurations. A statistical analysis of the ^1H chemical shift for H-22 and H-24 was conducted: for *E*-configured Δ_{22} , δ_{H} are 5.9 ± 0.2 and 7.8 ± 0.1 while for *Z*-configured Δ_{22} , δ_{H} are 5.3 ± 0.1 and 7.2 ± 0.2 , respectively. Since δ_{H} measured for compound **828** was 4.98 and 6.97, it should be assigned as (22*Z*)-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),7,22,24-tetraen-23,26-olid-3-oic acid.

The isolates were evaluated *in vitro* for their cytotoxic activities against two human cancer cell lines, namely lung carcinoma (A549) and colon adenocarcinoma (DLD-1), as well as against one healthy cell line (WS1) using the resazurin reduction test [356]. Etoposide was used as a positive control ($\text{IC}_{50} \leq 1.0$ μM). None of the compounds were found to be active ($\text{IC}_{50} > 25$ μM) with the exception of abiesonic acid (**838**), which showed a weak cytotoxic activity against A549 ($\text{IC}_{50} = 22$ μM). The antibacterial activity of isolated compounds was also evaluated *in vitro* against *E. coli* and *S. aureus* using the microdilution assay [357] with gentamycin as a positive control ($\text{MIC} < 0.1$ $\mu\text{g ml}^{-1}$). No activity was observed for all the tested compounds ($\text{MIC} \geq 50$ μM) except for triterpenoids **714** and **841**, which were weakly active against *S. aureus* ($\text{MIC} = 25$ μM).

8. EXPERIMENTAL SECTION¹⁴

8.1. General methods

Optical rotations $[\alpha]^{20}_D$ were measured on an Autopol IV polarimeter. FTIR spectra were recorded on a Perkin-Elmer SpectrumOne. For the purpose, the sample was deposited on a NaCl window using CHCl_3 solution and dried before analysis. The 1D (^1H , ^{13}C and DEPT135) and 2D NMR spectra (^1H - ^1H COSY, HSQC, HMBC and NOESY) were performed using an Avance 400 Bruker spectrometer (400.13 MHz for ^1H , 100.61 MHz for ^{13}C) equipped with a 5 mm QNP-probe. All spectra were acquired in CD_3OD , CDCl_3 , $\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$ 1:1 or pyridine- d_5 and chemical shifts are reported in ppm (δ) relative to TMS. High resolution electrospray ionization mass spectra (HRESIMS) were obtained in positive mode on an Agilent 6210 TOF LCMS. HPLC-APCI MS (negative mode) were conducted on an Agilent 1100 series system consisting of a degasser, a quaternary pump, an automatic injector, a temperature-controlled column compartment, a diode array detector and a mass selective detector Agilent G1946 VL model equipped with an APCI source. Analytical separations were performed on a 6.0×250 mm Inertsil prep-ODS C_{18} reversed-phase column (10 μm of particle size) using a $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ system with the pH of water adjusted to ~ 4 with formic acid (HPLC grade) to improve peak sharpness. Chromatographic conditions were the following: isocratic elution with H_2O pH 4/ CH_3CN (30:70 to 5:95) at a flow rate of 0.8 ml/min and column oven at 25 $^\circ\text{C}$. Preparative HPLC separation (Agilent 1100) were carried out on a 20.0×250 mm Inertsil prep-ODS C_{18} column using a multiple-wavelength detector and an automatic fraction collector. The solvents were purchased from VWR (Canada). The TLC plates (aluminium sheets of silica gel ultra-pure 250 μm , with indicator F_{254}) and silica gel ultra-pure (40-63 μm with indicator F_{254}) were supplied from Silicycle (Canada) and low-pressure liquid chromatography columns were purchased from Büchi Labortechnik (Suisse). Polyamide CC-6 was purchased from Macherey-Nagel (Germany). Solvent systems for TLC analyses were: (a) hexanes/EtOAc (3:1), (b) $\text{CHCl}_3/\text{EtOAc}$ (80:1 to 20:1), (c) $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (40:1) developing with H_2SO_4 (20% in MeOH) with charring at 100 $^\circ\text{C}$.

¹⁴ Cette section se trouve dans les matériaux supplémentaires, disponible gratuitement sur internet à l'adresse www.beilstein-journals.org/bjoc/content/supplementary/1860-5397-9-150-S1.pdf. Le reste des informations de ce document est reproduit à la page 189

8.2. Plant material

Oleoresin (1st lot) was harvested by M. Marcel Pichette in Summer 2007 at Saguenay, Québec, Canada. A specimen of the scored tree was identified by M. Patrick Nadeau and submitted to herbium Louis-Marie at Université Laval (QFA0579436). In the second purification protocol, the oleoresin (lot number: GS0911, 2nd lot) was provided by Les Gommages de Sapin du Québec, Inc., Charlevoix (Québec), Canada.

8.3. Extraction and isolation

Extraction and isolation of compounds **620**, **825**, **826**, **828**, **831**, **832**, **838** and **841** were achieved in a similar manner as described by Lavoie *et al.* [198], *Abies balsamea* (L.) Mill. (Pinaceae) oleoresin (500 g, 1st lot) was directly fractionated by silica gel column using hexanes/EtOAc (100:0 → 93:7) as eluant and finally washed by MeOH. The fractions obtained with hexanes/EtOAc 93:7 and MeOH were combined and the resulting solution was evaporated under reduced pressure to obtain 75 g of a light brown gum. A part of this extract (Fr A, 60 g) was further fractionated by silica gel chromatography eluting with hexanes/EtOAc 3:1 (A.1, 14 g), hexanes/EtOAc 2:1 (A.2, 19 g), hexanes/EtOAc 1:1 and finally washed with MeOH (A.3, 21.5 g). Subfraction A.2 was fractionated by silica gel column with hexanes/EtOAc (3:1) giving five other subfractions A.2.1–A.2.5. Subfraction A.2.3 was further chromatographed on silica gel column with CHCl₃/MeOH (40:1) yielding three subfractions A.2.3.1–A.2.3.3. Fraction A.2.3.2 was purified on RP18 flash chromatography using gradient elution (H₂O/MeOH 20:80 → 0:100) followed by HPLC (H₂O/ACN 20:80) giving abiesonic acid 3-methyl ester (**841**, 12.1 mg). Fraction A.2.3.3 was purified on RP18 flash chromatography using gradient elution (H₂O/MeOH 20:80 → 0:100). Further HPLC separation (H₂O/ACN 20:80) afforded (22*Z*)-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),7,22,24-tetraen-23,26-olid-3-oic acid (**828**, 15.2 mg), abiesolidic acid (**826**, 18.5 mg) and (23*R*,25*R*)-3,4-seco-17,14-friedo-9 β H-lanosta-4(28),6,8(14)-trien-26,23-olid-3-oic acid (**832**, 14.3 mg). Purification of A.2.5 on Polyamide column (H₂O/MeOH 20:80) and further preparative HPLC separation (H₂O/MeOH 20:80) yielded pure abiesonic acid (**838**, 10 mg). Fraction A.3 was separated on preparative HPLC (H₂O/MeOH/HCOOH 15:85:0.1) giving four compounds: (24*E*)-23-oxo-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),6,8(14),24-tetraen-3,26-dioic acid (**831**, 11 mg), (24*E*)-23-oxo-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),7,24-triene-3,26-dioic acid (**825**, 10 mg), firmanoic acid (**760**, 8.7 mg) and 15-hydroxydehydroabietic acid (**620**, 2.5 mg).

In a second purification protocol, oleoresin (1.36 kg, 2nd lot) was triturated in cold hexanes (ratio: 40 g/L of solvent) and the precipitate was filtered off by vacuum filtration on Whatman 4 to give a yellowish powder (Fr B, 45.7 g). The filtrate was evaporated under reduced pressure to give a yellow oil (Fr C, 1.28 kg). The precipitate was subjected to a silica gel column with CH₂Cl₂/MeOH (4:1) to remove nonpolar compounds and washed with MeOH. The washing was purified with CH₂Cl₂/MeOH (25:1 → 15:1) on silica gel column and finally with MeOH to give four fractions Fr B.1–Fr B.4. Fraction B.2 (11.0 g) was purified by silica gel column with CH₂Cl₂/MeOH (50:1 → 30:1 → 20:1 → MeOH) and MeOH fraction was further fractionated by low-pressure liquid chromatography on RP18 silica gel column with a gradient from 70% to 100% MeOH in water to afford four subfractions named B.2.1–B.2.4. Fraction B.2.2 (577 mg) was purified by preparative HPLC (H₂O/MeOH + 0.1% HCOOH 90% → 100%) to obtained four fractions B.2.2.1–Fr B.2.2.4. Fraction B.2.2.2 (174 mg) was separate by preparative HPLC (H₂O/MeOH + 0.1% HCOOH 82% → 85%) and (H₂O/ACN + 0.1% HCOOH 60% → 70%) giving 3 α -hydroxy-23-oxocycloart-25(27)-en-26-oic acid (**714**, 14.0 mg) and (25*R*)-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),7-diene-3,26-dioic acid (**824**, 9.2 mg). Purification of B.2.2.3 (148 mg) by preparative HPLC (H₂O/MeOH + 0.1% HCOOH 88% → 93%) allowed the isolation of awashishinic acid (**712**, 15.2 mg). Preparative HPLC of fraction B.2.3 (636 mg) using (H₂O/ACN + 0.1% HCOOH 87% → 100%) followed by (H₂O/MeOH + 0.1% HCOOH 89% → 92%) led to the isolation of (24*E*)-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),7,24-triene-3,26-dioic acid (**823**, 6.7 mg).

Filtrate obtained after trituration of oleoresin was also subjected to purification. A part of this filtrate (100.2 g) was treated by liquid/liquid extraction with petroleum ether and NaOH 2% in order to separate acidic (21.4 g) and neutral (35.6 g) compounds. An aliquot of the neutral fraction (30.0 g) was chromatographed on a silica gel column with hexanes/EtOAc (35:1 → 15:1) and washed with MeOH to give four fractions C.1–C.4. Fraction C.4 (2.8 g) was further purified with a silica gel column according to a gradient of petroleum ether/EtOAc (25:1 → 15:1 → 10:1 → 1:1) and washed with MeOH to obtain eight fractions C.4.1–C.4.8. Fraction C.4.6 (294 mg) was separated on preparative HPLC (H₂O/ACN 70% → 87%) giving methyl 15-hydroxydehydroabietate (**632**, 22.1 mg). Purification by preparative HPLC of fraction C.4.7 using (H₂O/MeOH 60% → 96%) allowed the isolation of methyl 13-oxo-podocarp-8(14)-en-15-oate (**573**, 3.2 mg) and (12*E*)-8-hydroxy-15-nor-12-labden-14-al (**666**, 12.6 mg). Fraction C.4.8 was chromatographed on silica gel column with CH₂Cl₂/MeOH (75:1 → 50:1 → 35:1 → 20:1 → MeOH), with low-pressure liquid chromatography on silica gel column with a gradient from 9% to 100% MeOH in CH₂Cl₂ and finally

purified by preparative HPLC (H₂O/ACN 55% → 70%) to obtain abiesanordine C (**680**, 5.0 mg) and 8-hydroxy-14,15-dinor-11-labden-13-one (**655**, 3.1 mg).

8.4. Characterization

Awashishinic acid (712): light brown amorphous solid; $[\alpha]^{20}_D +10.7^\circ$ (c 1.5, CH₂Cl₂); IR (film) ν_{\max} 3413, 2934, 2863, 1708, 1691, 1622, 1378, 1248 cm⁻¹; ¹H and ¹³C NMR spectroscopic data, see table 32; HRESIMS m/z 471.3465 [M + H]⁺ (calcd for C₃₀H₄₇O₄, 471.3469).

3 α -Hydroxy-23-oxocycloart-25(27)-en-26-oic acid (714): white amorphous solid; $[\alpha]^{20}_D +1.9^\circ$ (c 0.7, CH₂Cl₂:MeOH 1:1); IR (film) ν_{\max} 3416, 2930, 2868, 1708, 1633 cm⁻¹; ¹H and ¹³C NMR spectroscopic data, see tables 27 and 28; HRESIMS m/z 471.3463 [M + H]⁺ (calcd for C₃₀H₄₇O₄, 471.3469), m/z 493.3282 [M + Na]⁺ (calcd for C₃₀H₄₆O₄Na, 493.3288).

Firmanoic acid (760): white amorphous solid; $[\alpha]^{20}_D +10.3$ (c 0.4, CHCl₃); IR (film) ν_{\max} 2952, 2878, 1698, 1383, 1275, 1247, 1229, 755 cm⁻¹; ¹H and ¹³C NMR, see table 32; HRESIMS m/z 469.3304 [M + H]⁺ (calcd for C₃₀H₄₅O₄, 469.3312).

23-Oxo-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),7-diene-3,26-dioic acid (824): white amorphous solid; $[\alpha]^{20}_D -26.9^\circ$ (c 0.9, CH₂Cl₂); IR (film) ν_{\max} 2951, 2878, 1707, 1635, 1376, 902, 737 cm⁻¹; ¹H and ¹³C NMR spectroscopic data, see table 33; HRESIMS m/z 487.3414 [M + H]⁺ (calcd for C₃₀H₄₇O₅, 487.3418).

(24E)-23-Oxo-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),7,24-triene-3,26-dioic acid (825): white amorphous solid; $[\alpha]^{20}_D -31.5$ (c 1.0, MeOH); IR (film) ν_{\max} 2954, 2880, 1703, 1633, 1377, 1278, 1216, 757 cm⁻¹; ¹H and ¹³C NMR spectroscopic data, see tables 27 and 28; HRESIMS m/z 485.3250 [M + H]⁺ (calcd for C₃₀H₄₅O₅, 485.3262).

(22Z)-3,4-seco-9 β H-Lanosta-4(28),7,22,24-tetraen-26,23-olid-3-oic acid (828): white amorphous solid; $[\alpha]^{20}_D -64.3^\circ$ (c 1.5, CHCl₃); IR (film) ν_{\max} 2954, 1763, 1707, 1452, 1375, 1299, 1215, 1057, 962, 900, 757 cm⁻¹; ¹H and ¹³C, see table 34; HRESIMS m/z 467.3151 [M + H]⁺ (calcd for C₃₀H₄₃O₄, 467.3156).

(24E)-23-Oxo-3,4-seco-9 β H-lanosta-4(28),6,8(14),24-tetraen-3,26-dioic acid (831): white amorphous solid; $[\alpha]_D^{20}$ -97.5 (c 1.0, MeOH); IR (film) ν_{\max} 2963, 2878, 1702, 1635, 1372, 1277, 1216, 756 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see tables 27 and 28; HRESIMS m/z 483.3087 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{43}\text{O}_5$, 483.3105).

Abiesonic acid (838): white amorphous solid; $[\alpha]_D^{20}$ -24.6 (c 1.0, MeOH); IR (film) ν_{\max} 2963, 2878, 1703, 1381, 1274, 1216, 756 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see table 35; HRESIMS m/z 483.3093 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{43}\text{O}_5$, 483.3105).

Abiesonic acid 3-methyl ester (841): white amorphous solid; $[\alpha]_D^{20}$ -8.8 (c 1.0, CHCl_3); IR (film) ν_{\max} 2961, 2878, 1736, 1692, 1436, 1379, 1272, 1216, 1197, 756 cm^{-1} ; ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data, see tables 27 and 28; HRESIMS m/z 497.3261 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{O}_5$, 497.3262).

8.5. Cytotoxic activity bioassay

The cytotoxic activity bioassay was achieved in a similar manner as described by Mshvildadze *et al.* [17]. Lung carcinoma (A549), colon adenocarcinoma (DLD-1) and normal skin fibroblast (WS1) human cell lines were purchased from the American Type Culture Collection (ATCC). All cell lines were cultured in minimum essential medium containing Earle's salts and L-glutamine (Mediatech Cellgro, VA), to which were added 10% fetal bovine serum (Hyclone), vitamins (1 \times), penicillin (100 I.U. mL^{-1}) and streptomycin (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$), essential amino acids (1 \times) and sodium pyruvate (1 \times) (Mediatech Cellgro, VA). Cells were kept at 37 $^{\circ}\text{C}$ in a humidified environment containing 5% CO_2 . Exponentially growing cells were plated in 96-well microplates (Costar, Corning Inc.) at a density of 5×10^3 cells per well in 100 μL of culture medium and were allowed to adhere for 16 h before treatment. Increasing concentrations of each compound in DMSO (Sigma-Aldrich) were then added (100 μL per well) and the cells were incubated for 48 h. The final concentration of DMSO in the culture medium was maintained at 0.5% (v/v) to avoid solvent toxicity. Cytotoxicity was assessed using resazurin reduction test [356] on an automated 96-well Fluoroskan Ascent F1 TM plate reader (Labsystems) using excitation and emission wavelengths of 530 nm and 590 nm, respectively. Fluorescence was proportional to the cellular metabolic activity in each well. Survival percentages were defined as the fluorescence in experimental wells compared to that in control wells after subtraction of blank values. Cytotoxicity results were expressed as mean \pm standard deviation

and represent the concentration inhibiting 50% of cell growth (IC_{50}). Each experiment was carried out three times in triplicate.

8.6. Antibacterial bioassay

Antibacterial activity was evaluated using the microdilution method [357] with some modifications. Briefly, exponentially growing bacteria were plated in 96-well flat-bottom microplates (BD Falcon) at a density of 5×10^3 Gram-negative *E. coli* (ATCC 25922) or 40×10^3 Gram-positive *S. aureus* (ATCC 25923) per well in 100 μ L nutrient broth (Difco). Increasing concentrations of compounds in DMSO (Sigma-Aldrich) were then added (100 μ L per well). The final concentration of DMSO in the culture medium was maintained at 0.25% (v/v) to avoid solvent toxicity. Fifty microliters of 4% resazurin was added to each well and the microplates were incubated for 6 h at 37 °C. Absorbance was measured after 6 h on an automated 96-well Varioskan plate reader (Thermo-Labsystems) at wavelengths of 600 nm and 660 nm for *E. coli* and *S. aureus* respectively.

9. ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge "Chaire de Recherche sur les Agents Anticancéreux d'Origine Végétale" and NSERC for funding, and Catherine Dussault for biological assessment. The photograph from our graphical abstract is from Robert H. Mohlenbrock @ USDA-NRCS PLANTS Database / USDA NRCS. 1995. Northeast wetland flora: Field office guide to plant species. Northeast National Technical Center, Chester.

ANNEXE G : SUPPORTING INFORMATIONS

Table 29: NMR Spectroscopic Data (400 MHz, CDCl₃) for compounds **573** and **680**

Position	573		680	
	δ_C , mult	δ_H , mult (<i>J</i> in Hz)	δ_C , mult	δ_H , mult (<i>J</i> in Hz)
1	38.3, CH ₂	1.79, m 1.22, m	38.2, CH ₂	1.84, m 1.17, m
2	17.9, CH ₂	1.59, m	17.1, CH ₂	1.65, m
3	36.7, CH ₂	1.74, m 1.64, m	32.4, CH ₂	1.41, m
4	47.3, C	-	49.5, C	-
5	48.2, CH	2.07, dd (12.6, 2.6)	45.8, CH	1.75, m
6	24.1, CH ₂	1.59, m 1.34, m	23.7, CH ₂	1.58, m 1.26, m
7	35.2, CH ₂	2.50, ddd (15.8, 4.9, 1.5) 2.35, m	35.0, CH ₂	2.51, dd (15.0, 3.8) 2.35, m
8	164.9, C	-	164.2, C	-
9	51.6, CH	2.19, m	51.3, CH	2.19, m
10	38.4, C	-	37.8, C	-
11	20.4, CH ₂	2.02, m 1.75, m	20.4, CH ₂	2.04, m 1.77, m
12	36.8, CH ₂	2.41, dt (15.8, 4.2) 2.25, m	36.7, CH ₂	2.42, m 2.24, m
13	199.8, C	-	199.6, C	-
14	126.2, CH	5.88, br s	126.4, CH	5.90, s
15	-	-	-	-
16	-	-	-	-
17	-	-	-	-
18	179.0, C	-	205.8, CH	9.28, s
19	17.0, CH ₃	1.23, s	14.8, CH ₃	1.14, s
20	15.6, CH ₃	0.85, s	15.8, CH ₃	0.88, s
OMe	52.1, CH ₃	3.69, s		

Table 30: NMR Spectroscopic Data (400 MHz, CDCl₃) for compounds **620** and **632**

Position	620		632	
	δ_C , mult	δ_H , mult (<i>J</i> in Hz)	δ_C , mult	δ_H , mult (<i>J</i> in Hz)
1	37.9, CH ₂	2.32, m 1.48, m	37.9, CH ₂	2.31, br d (12.3) 1.49, m
2	18.5, CH ₂	1.77, m	18.5, CH ₂	1.74, m
3	36.7, CH ₂	1.80, m 1.72, m	36.6, CH ₂	1.76, m 1.64, m
4	47.3, C	-	47.6, C	-
5	44.6, CH	2.24, m	44.8, CH	2.23, dd (12.5, 1.9)
6	21.7, CH ₂	1.87, m 1.56, m	21.7, CH ₂	1.83, m 1.41, m
7	30.1, CH ₂	2.93, m	30.1, CH ₂	2.90, m
8	134.7, C	-	134.7, C	-
9	147.8, C	-	147.9, C	-
10	36.9, C	-	37.0, C	-
11	124.1, CH	7.22, m	124.1, CH	7.22, m
12	122.0, CH	7.22, m	122.0, CH	7.23, m
13	146.0, C	-	146.0, C	-
14	124.9, CH	7.16, m	124.9, CH	7.15, br s
15	72.3, C	-	72.3, C	-
16	31.6, CH ₃	1.56, s	31.6, CH ₃	1.56, m
17	31.6, CH ₃	1.56, s	31.6, CH ₃	1.56, m
18	183.7, C	-	179.1, C	-
19	16.3, CH ₃	1.29, s	16.5, CH ₃	1.28, m
20	25.1, CH ₃	1.22, s	25.1, CH ₃	1.21, m
OMe	-	-	52.0, CH ₃	3.66, s

Table 31: NMR Spectroscopic Data (400 MHz) for compounds **655** and **666**

Position	655^a		666^b	
	δ_{C} , mult	δ_{H} , mult(J in Hz)	δ_{C} , mult	δ_{H} , mult (J in Hz)
1	41.0, CH ₂	1.34, m 0.88, m	41.6, CH ₂	1.55, m 0.94, m
2	18.3, CH ₂	1.58, m 1.40, m	19.5, CH ₂	1.65, m 1.41, m
3	41.8, CH ₂	1.40, m 1.15, m	43.0, CH ₂	1.38, m 1.18, m
4	33.3, C	-	34.2, C	-
5	55.5, CH	0.93, dd (12.1, 2.1)	57.5, CH	1.01, m
6	20.2, CH ₂	1.71, m 1.34, m	21.5, CH ₂	1.70, m 1.37, m
7	42.9, CH ₂	1.93, dt (12.5, 3.2) 1.50, m	45.2, CH ₂	1.87, dt (12.3, 3.1) 1.49, m
8	72.4, C	-	74.4, C	-
9	65.9, CH	1.95, d (10.6)	63.1, CH	1.48, m
10	37.9, C	-	40.3, C	-
11	144.6, CH	6.85, dd (15.6, 10.6)	26.4, CH ₂	2.57, dt (9.6, 5.1) 2.43, ddd (13.7, 8.3, 6.1)
12	135.4, CH	6.20, d (15.6)	161.9, CH	6.72, t (7.0)
13	197.5, C	-	138.1, C	-
14	-	-	197.4, CH	9.32, s
15	-	-	-	-
16	27.8, CH ₃	2.28, s	9.3, CH ₃	1.74, s
17	25.1, CH ₃	1.27, s	23.8, CH ₃	1.16, s
18	33.4, CH ₃	0.89, s	22.0, CH ₃	0.84, s
19	21.6, CH ₃	0.82, s	33.9, CH ₃	0.89, s
20	16.0, CH ₃	0.99, s	16.1, CH	0.92, s

^a Acquired in CDCl₃. ^b Acquired in CD₃OD.

Table 32: NMR Spectroscopic Data (400 MHz) for compounds **712** and **760**

Position	712^a		760^b	
	δ_C , mult	δ_H , mult (<i>J</i> in Hz)	δ_C , mult	δ_H , mult (<i>J</i> in Hz)
1	28.1, CH ₂	2.32, m 1.06, m	35.2, CH ₂	1.78, m 1.66, m
2	29.7, CH ₂	2.04, m 1.90, m	35.4, CH ₂	2.55, m 2.49, m
3	76.1, CH	3.72, br s	221.8, C	-
4	40.1, C	-	48.1, C	-
5	41.1, CH	2.28, m	53.8, CH	1.48, m
6	21.4, CH ₂	1.54, m 0.76, m	24.0, CH ₂	1.95, m 1.85, m
7	26.1, CH ₂	1.29, m 1.10, m	122.9, CH	5.69, dt (7.8, 2.5)
8	48.2, CH	1.53, m	149.9, C	-
9	19.9, C	-	46.8, CH	2.28, m
10	27.1, C	-	37.0, C	-
11	26.5, CH ₂	2.02, m 1.16, m	21.9, CH ₂	1.68, m 1.11, m
12	33.1, CH ₂	1.59, m	35.5, CH ₂	1.90, m 1.71, m
13	45.6, C	-	45.3, C	-
14	49.3, C	-	53.2, C	-
15	35.7, CH ₂	1.31, m	34.3, CH ₂	1.66, m 1.47, m
16	28.6, CH ₂	1.89, m 1.29, m	29.5, CH ₂	2.01, m 1.31, m
17	52.6, CH	1.65, m	54.4, CH	1.63, m
18	18.3, CH ₃	1.03, o	22.9, CH ₃	0.86, s
19	29.9, CH ₂	0.50, d (4.1) 0.34, d (4.1)	23.5, CH ₃	1.00, s
20	33.5, CH	2.24, m	34.7, CH	2.04, m
21	19.7, CH ₃	1.03, o	20.0, CH ₃	0.91, d (6.4)
22	52.3, CH ₂	2.74, br d (14.0) 2.38, dd (15.4, 9.6)	52.8, CH ₂	2.68, dd (15.6, 3.0) 2.28, m
23	202.8, C	-	204.7, C	-
24	132.5, CH	7.60, m	133.0, CH	7.07, br d (0.9)
25	143.1, C	-	143.6, C	-
26	170.9, C	-	171.6, C	-
27	15.2, CH ₃	2.61, s	14.9, CH ₃	2.15, d (1.3)
28	26.9, CH ₃	1.23, s	28.5, CH ₃	1.08, s
29	21.7, CH ₃	0.98, s	21.7, CH ₃	1.09, s
30	19.5, CH ₃	0.91, s	27.9, CH ₃	1.06, s

^a Acquired in Pyridine-d₅. ^b Acquired in CD₃OD.

Table 33: NMR Spectroscopic Data (400 MHz) for compounds **823** and **824**

823^a			824^b	
Position	δ_C , mult	δ_H , mult (<i>J</i> in Hz)	δ_C , mult	δ_H , mult (<i>J</i> in Hz)
1	29.7, CH ₂	2.26, m	28.8, CH ₂	1.71, m 1.59, m
2	178.1, C	-	29.3, CH ₂	2.29, m
3	150.5, C	-	180.7, C	-
4	46.0, CH	2.12, m	149.7, C	-
5	30.2, CH ₂	2.32, m 1.99, m	45.3, CH	2.07, d (6.7)
6	118.5, CH	5.34, m	29.7, CH ₂	2.27, m 1.98, m
7	147.3, C	-	118.0, CH	5.32, br s
8	39.5, CH	2.61, m	146.4, C	-
9	36.9, C	-	38.6, CH	2.57, m
10	19.2, CH ₂	1.68, m 1.58, m	36.3, C	-
11	34.7, CH ₂	1.87, m 1.70, m	18.5, CH ₂	1.61, m
12	44.3, C	-	33.8, CH ₂	1.82, m 1.66, m
13	52.2, C	-	43.8, C	-
14	34.6, CH ₂	1.53, m 1.49, m	51.6, C	-
15	28.8, CH ₂	1.98, m 1.30, m	34.0, CH ₂	1.51, m
16	53.6, CH	1.53, m	28.4, CH ₂	1.90, m 1.25, m
17	22.1, CH ₃	0.79, s	53.0, CH	1.51, m
18	24.4, CH ₃	0.88, s	21.7, CH ₃	0.78, s
19	36.7, CH	1.44, m	24.1, CH ₃	0.85, s
20	18.5, CH ₃	0.94, d (6.3)	33.0, CH	1.99, m
21	35.3, CH ₂	1.59, m 1.19, m	19.3, CH ₃	0.86, d (8.1)
22	26.3, CH ₂	2.26, m 2.13, m	50.0, CH ₂	2.46, br d (15.8) 2.19, dd (15.8, 10.2)
23	144.3, CH	6.81, t (7.4)	209.4, C	-
24	127.9, C	-	46.4, CH ₂	2.82, dd (17.5, 9.2) 2.49, dd (17.6, 4.6)
25	171.4, C	-	34.7, CH	2.97, m
26	12.4, CH ₃	1.83, s	181.8, C	-
27	112.2, CH ₂	4.88, br s 4.84, br s	16.9, CH ₃	1.22, d (7.1)
28	26.2, CH ₃	1.81, s	112.0, CH ₂	4.88, s 4.82, s
29	27.8, CH ₃	1.06, s	26.0, CH ₃	1.79, s
30	29.7, CH ₂	2.26, m	27.5, CH ₃	1.03, s

^a Acquired in CDCl₃/CD₃OD 1:1. ^b Acquired in CDCl₃.

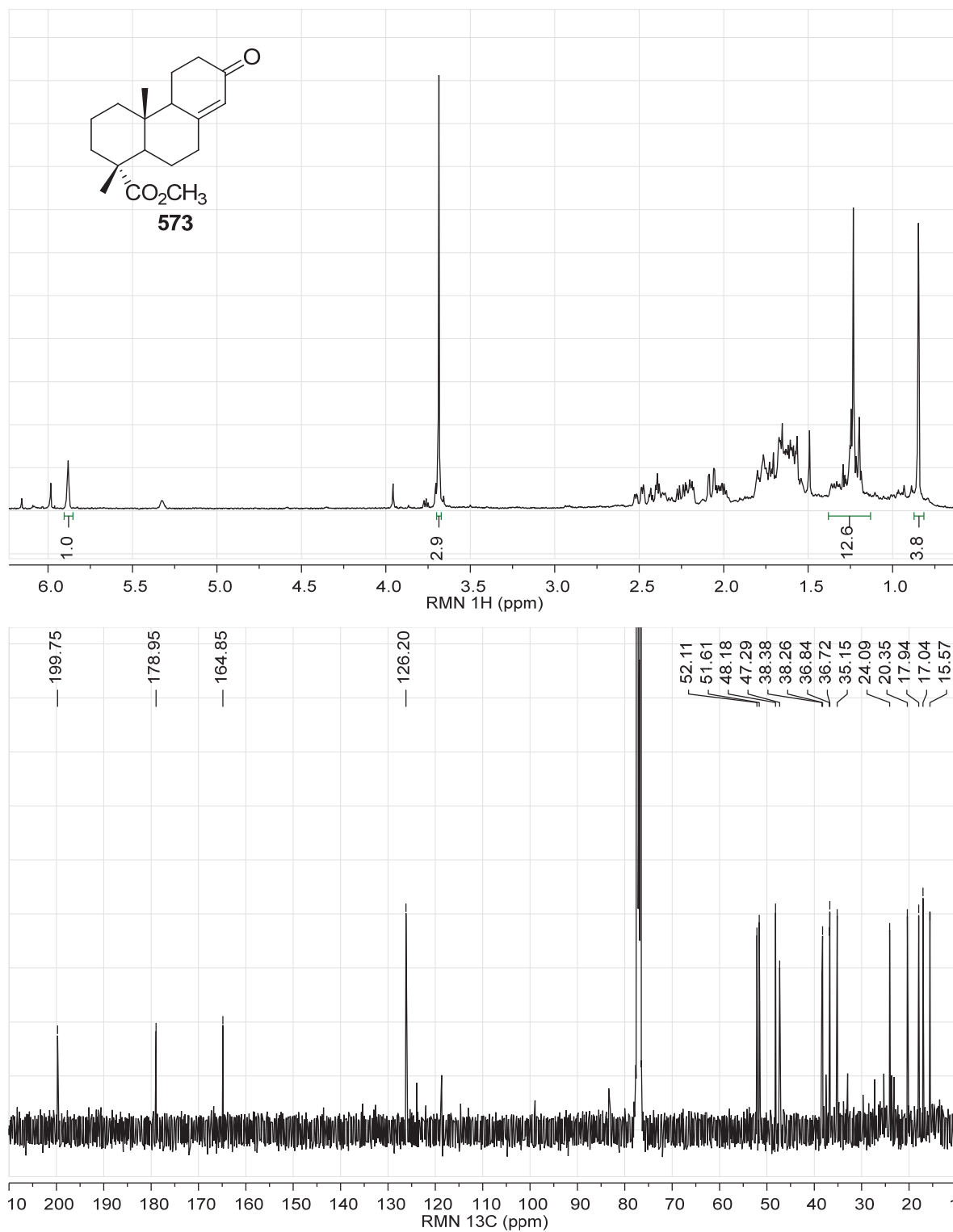
Table 34: NMR Spectroscopic Data (400 MHz, CDCl₃) for compounds **826** and **828**

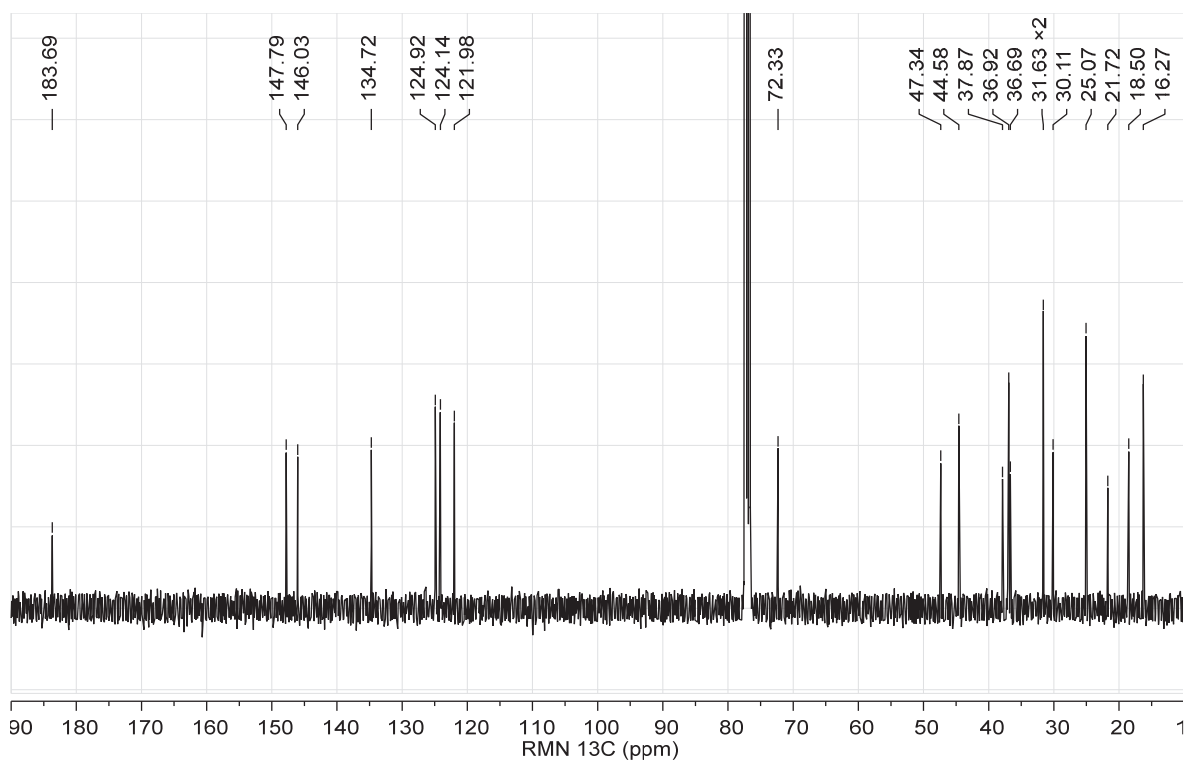
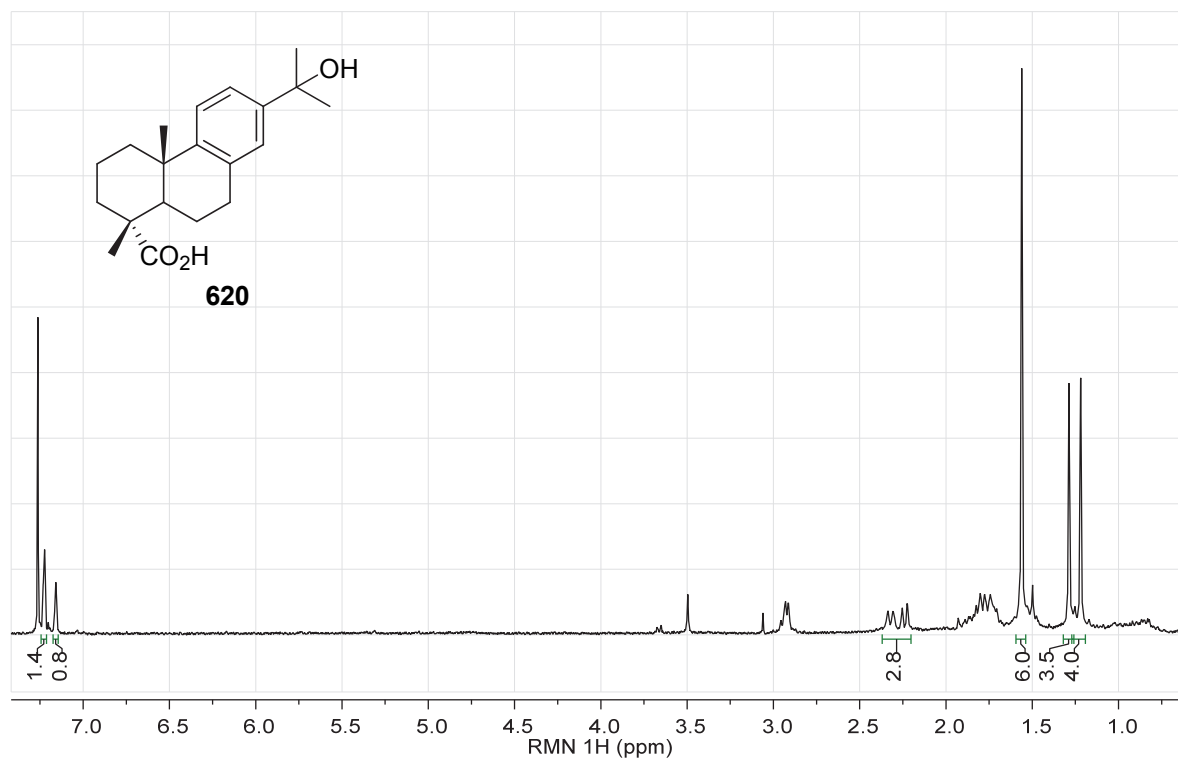
Position	826		828		828^a	
	δ_C , mult	δ_H , mult (<i>J</i> in Hz)	δ_C , mult	δ_H , mult (<i>J</i> in Hz)	δ_C , mult	δ_H , mult (<i>J</i> in Hz)
1	28.8, CH ₂	1.71, m 1.58, m	28.8, CH ₂	1.72, m 1.59, m	28.7, CH ₂	1.71, m 1.60, m
2	29.1, CH ₂	2.31, m	29.1, CH ₂	2.31, m	29.1, CH ₂	2.31, m
3	180.1, C	-	180.3, C	-	180.2, C	-
4	149.6, C	-	149.6, C	-	149.6, C	-
5	45.3, CH	2.08, m	45.3, CH	2.08, m	45.3, CH	2.08, d (6.9)
6	29.6, CH ₂	2.27, m 1.99, m	29.7, CH ₂	2.28, m 1.98, m	29.6, CH ₂	2.25, m 1.99, m
7	118.0, CH	5.32, br s	118.1, CH	5.31, br s	118.1, CH	5.32, br s
8	146.3, C	-	146.2, C	-	146.2, C	-
9	38.7, CH	2.58, m	38.6, CH	2.60, m	38.6, CH	2.60, d (10.6)
10	36.3, C	-	36.3, C	-	36.3, C	-
11	18.6, CH ₂	1.64, m 1.55, m	18.5, CH ₂	1.60, m	18.4, CH ₂	1.68, m 1.58, m
12	34.0, CH ₂	1.83, m 1.68, m	33.7, CH ₂	1.87, m 1.69, m	33.7, CH ₂	1.86, m 1.68, m
13	43.8, C	-	44.0, C	-	44.0, C	-
14	51.6, C	-	51.6, C	-	51.6, C	-
15	34.0, CH ₂	1.53, m 1.45, m	34.1, CH ₂	1.52, m 1.42, m	34.1, CH ₂	1.51, m 1.41, m
16	28.3, CH ₂	1.91, m 1.27, m	27.9, CH ₂	1.72, m 1.27, m	27.9, CH ₂	1.74, m 1.25, m
17	53.5, CH	1.46, m	53.0, CH	1.64, m	53.0, CH	1.65, m
18	21.7, CH ₃	0.75, s	21.9, CH ₃	0.81, s	21.9, CH ₃	0.82, s
19	24.1, CH ₃	0.85, s	24.1, CH ₃	0.86, br s	24.1, CH ₃	0.86, s
20	33.1, CH	1.70, m	34.4, CH	2.88, m	34.4, CH	2.89, m
21	18.2, CH ₃	0.95, d (6.4)	19.9, CH ₃	1.05, d (6.9)	19.8, CH ₃	1.05, d (6.6)
22	42.6, CH ₂	1.79, m 1.18, m	121.0, CH	4.98, d (10.3)	121.0, CH	4.98, d (10.4)
23	76.0, CH	4.66, m	146.5, C	-	146.5, C	-
24	36.4, CH ₂	2.05, m	138.1, CH	6.97, d (1.3)	138.1, CH	6.97, br s
25	34.2, CH	2.71, m	128.8, C	-	128.8, C	-
26	180.3, C	-	171.4, C	-	171.4, C	-
27	15.9, CH ₃	1.29, d (7.5)	10.5, CH ₃	1.99, br s	10.5, CH ₃	1.99, s
28	112.0, CH ₂	4.88, br s 4.82, s	112.1, CH ₂	4.89, s 4.82, s	112.1, CH ₂	4.89, s 4.82, s
29	26.0, CH ₃	1.79, s	26.0, CH ₃	1.80, m	25.9, CH ₃	1.80, s
30	27.5, CH ₃	1.02, s	27.5, CH ₃	1.03, m	27.4, CH ₃	1.04, s

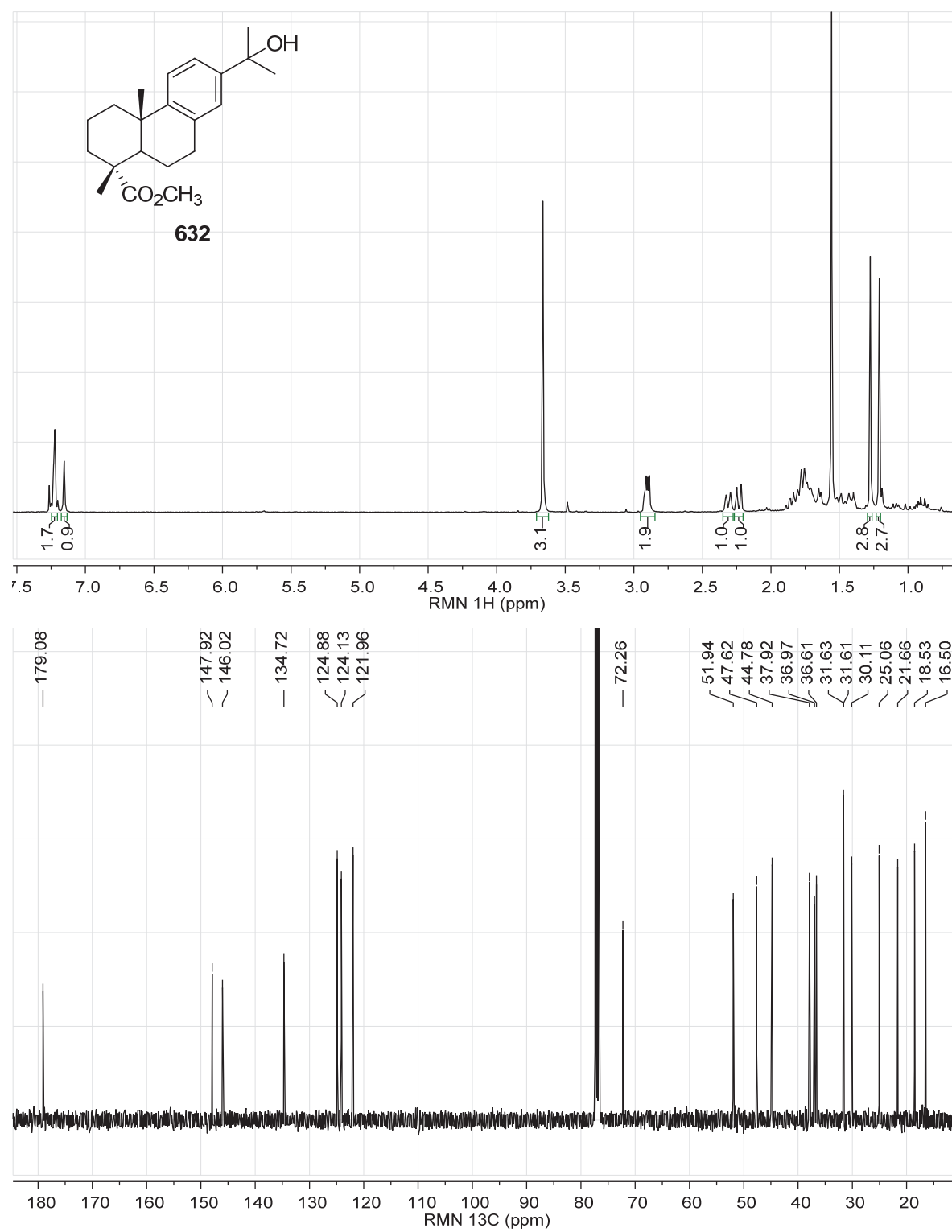
^a From Xia *et al.* [165];

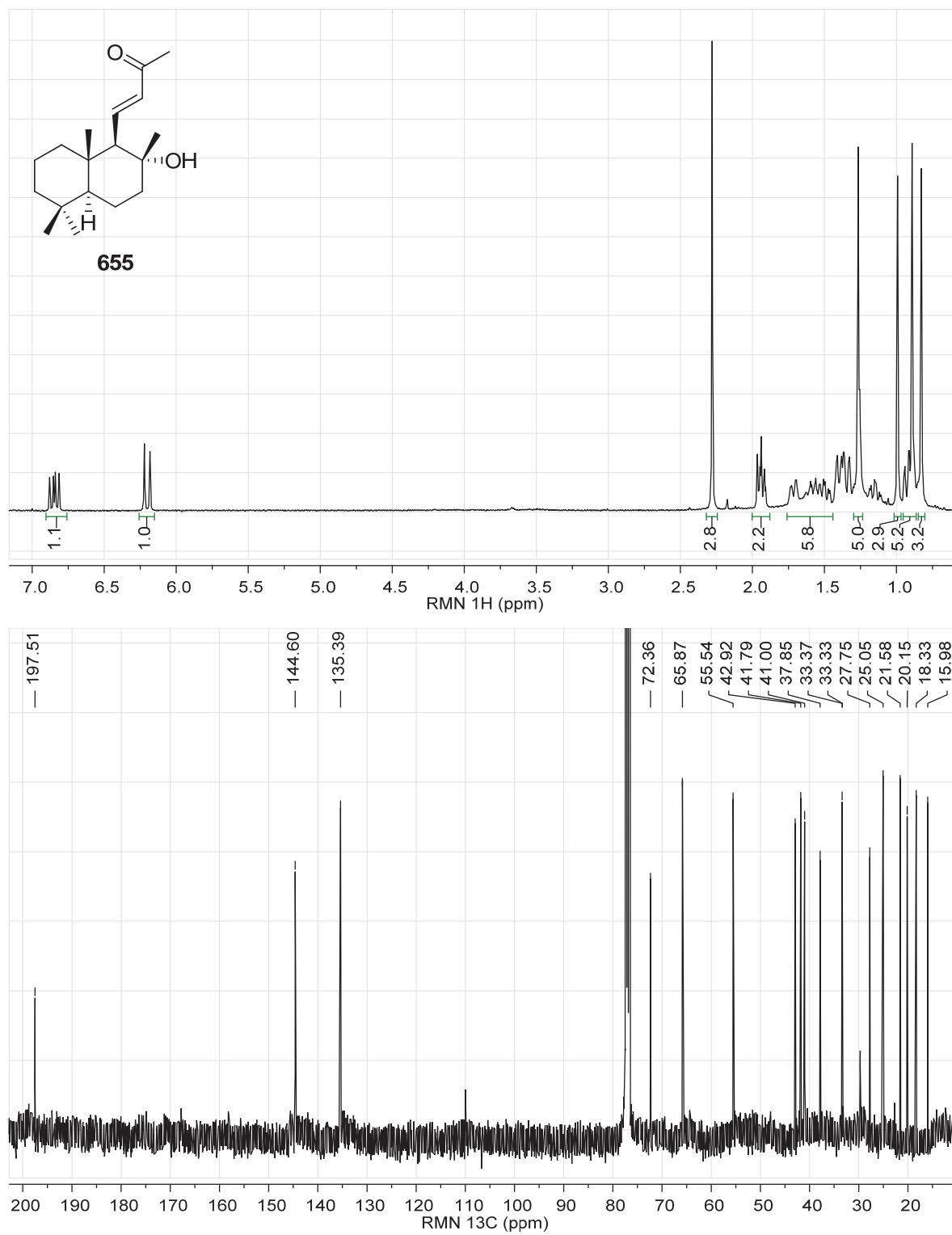
Table 35: NMR Spectroscopic Data (400 MHz, CDCl₃) for compounds **832** and **838**

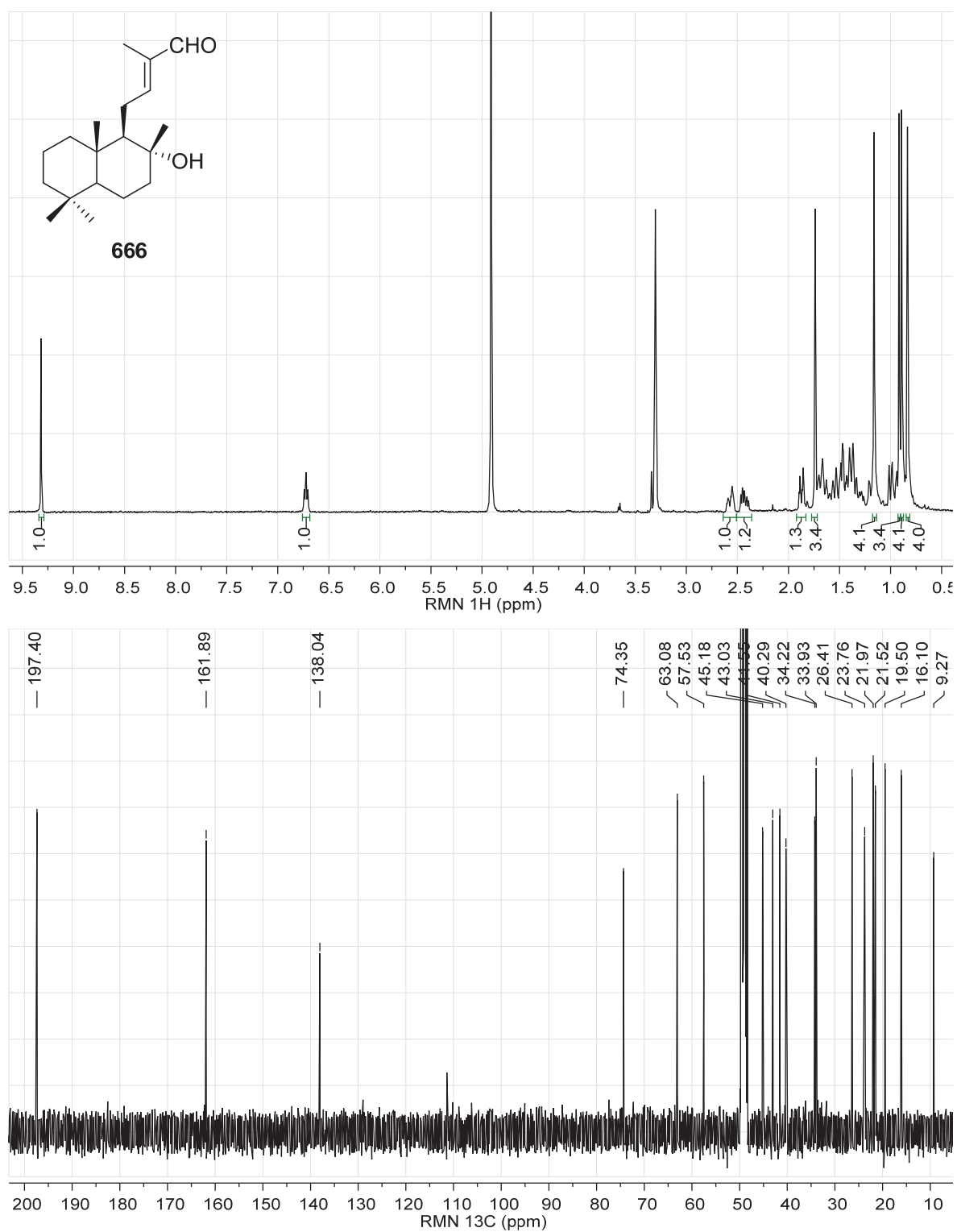
Position	832		838	
	δ_C , mult	δ_H , mult (<i>J</i> in Hz)	δ_C , mult	δ_H , mult (<i>J</i> in Hz)
1	28.5, CH ₂	1.59, m	30.3, CH ₂	1.76, m 1.66, m
2	29.9, CH ₂	2.29, m	29.1, CH ₂	2.36, m
3	180.0, C	-	180.3, C	-
4	145.9, C	-	149.1, C	-
5	50.6, CH	2.62, d (5.1)	44.1, CH	2.09, m
6	126.7, CH	5.36, dd (9.8, 5.5)	30.9, CH ₂	2.41, m 2.15, m
7	125.3, CH	6.21, d (9.9)	122.4, CH	5.49, dd (6.2, 3.1)
8	125.1, C	-	143.4, C	-
9	39.5, CH	2.39, m	49.5, CH	2.08, m
10	37.1, C	-	36.9, C	-
11	23.9, CH ₂	2.38, m 2.29, m	22.5, CH ₂	1.61, m 1.41, m
12	32.5, CH ₂	1.60, m	31.2, CH ₂	1.78, m 1.33, m
13	47.5, C	-	63.5, C	-
14	146.7, C	-	161.0, C	-
15	19.8, CH ₂	1.57, m	27.8, CH ₂	2.47, m 2.37, m
16	36.2, CH ₂	1.71, m 1.50, m	36.1, CH	1.57, m
17	49.1, C	-	50.3, C	-
18	15.6, CH ₃	0.65, s	17.7, CH ₃	0.90, s
19	21.9, CH ₃	0.85, s	24.7, CH ₃	0.93, s
20	34.4, CH	2.08, m	33.8, CH	2.38, m
21	15.3, CH ₃	0.93, d (6.7)	16.4, CH ₃	0.85, d (6.4)
22	38.7, CH ₂	1.91, m 1.21, m	48.3, CH ₂	2.51, m 2.25, m
23	76.7, CH	4.62, m	202.3, C	-
24	36.5, CH ₂	2.06, m	135.0, CH	7.13, q-like (1.5)
25	34.1, CH	2.71, m	138.4, C	-
26	180.0, C	-	172.7, C	-
27	15.9, CH ₃	1.29, d (7.3)	13.9, CH ₃	2.18, d (1.5)
28	115.4, CH ₂	4.96, s 4.75, s	112.0, CH ₂	4.87, s 4.79, d (2.5)
29	24.8, CH ₃	1.78, s	26.2, CH ₃	1.76, s
30	21.7, CH ₃	1.02, s	106.9, CH ₂	4.77, s 4.72, s

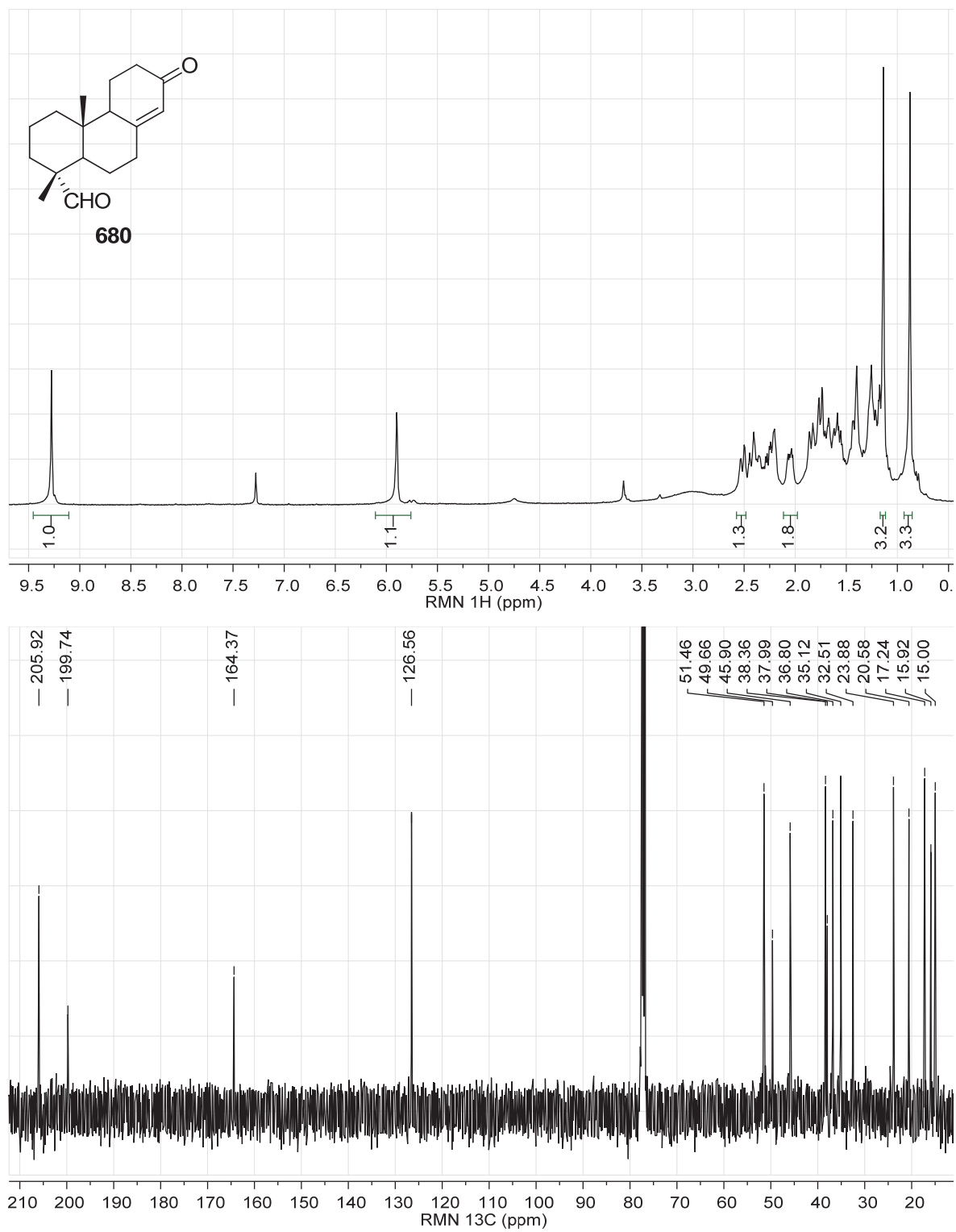


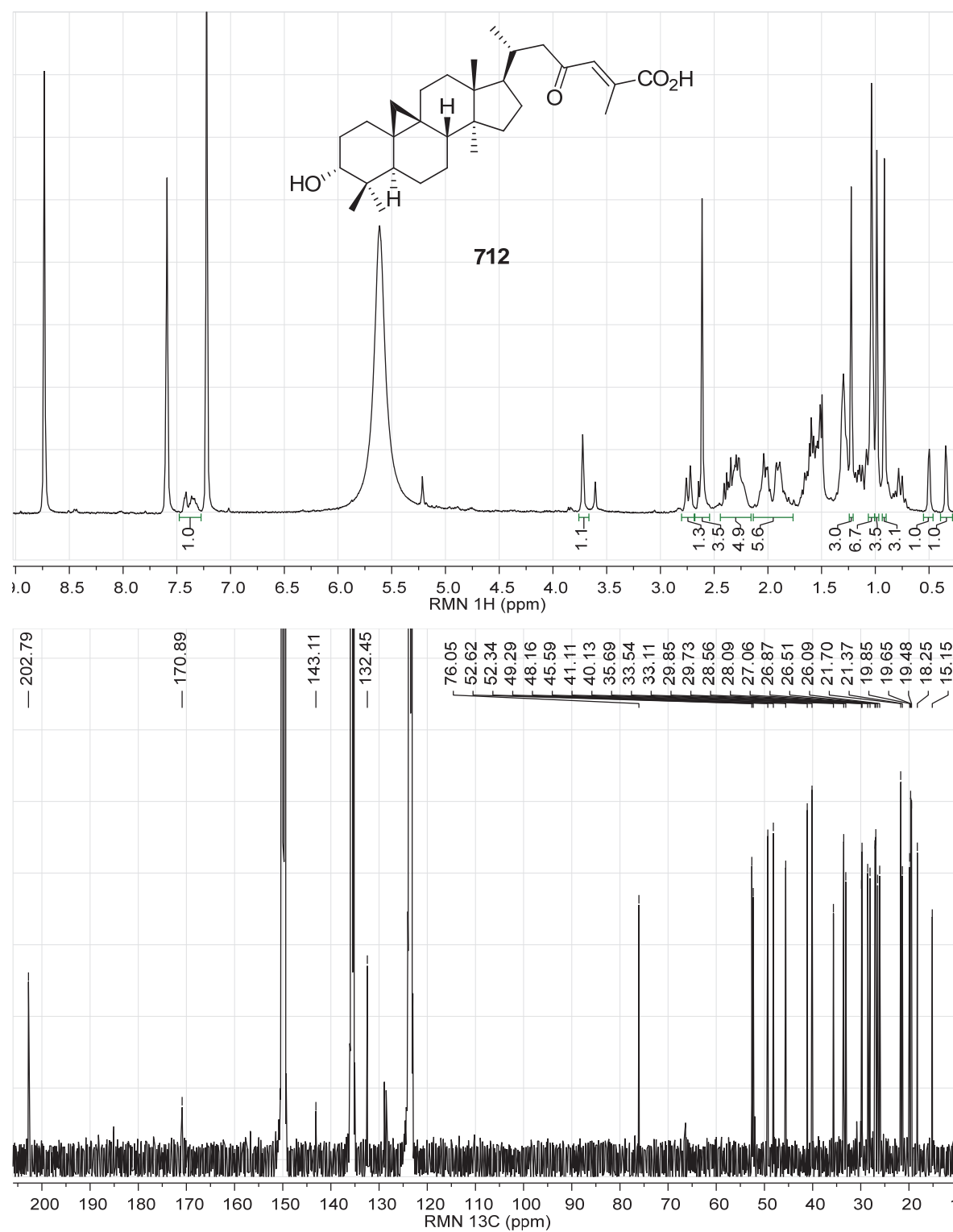


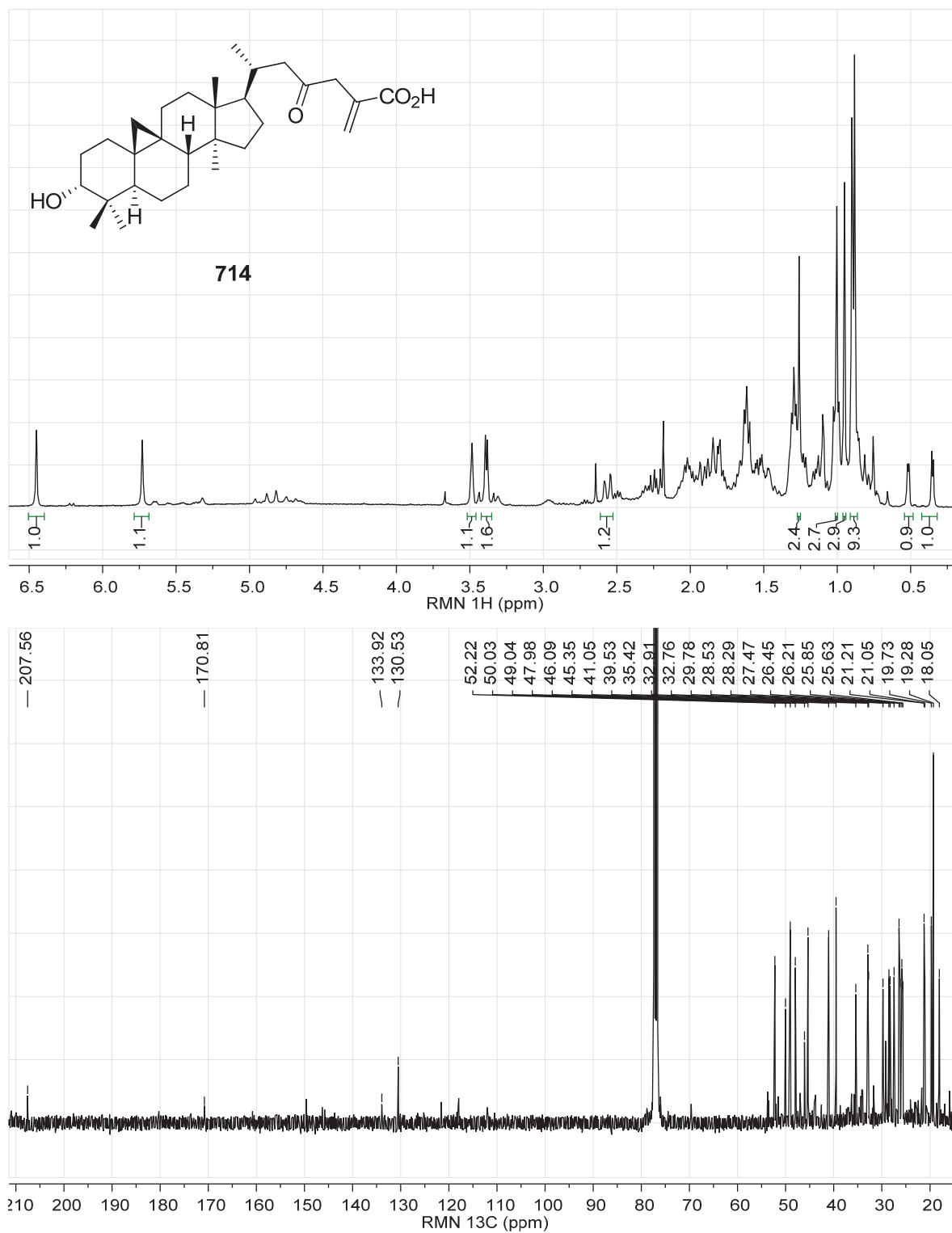


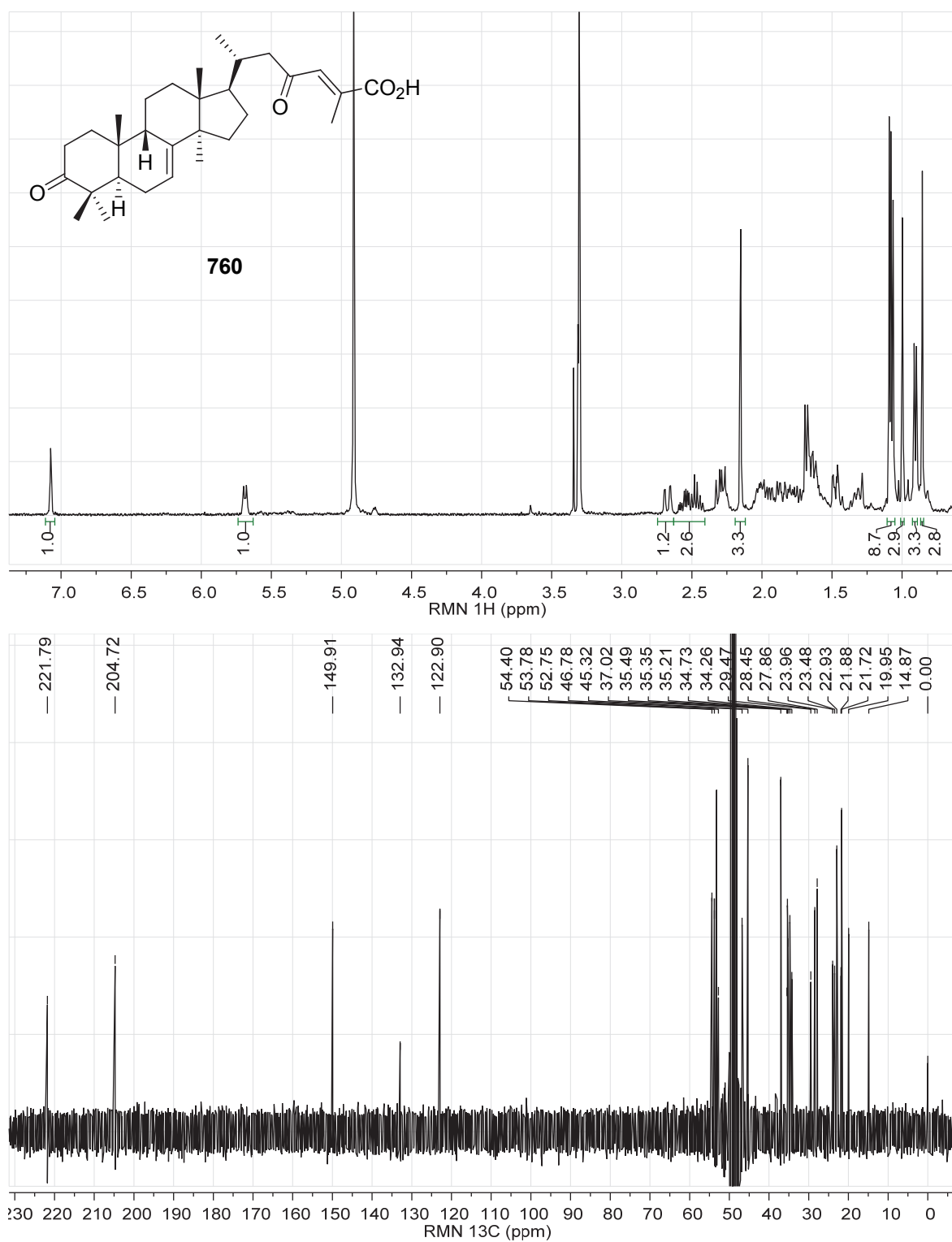


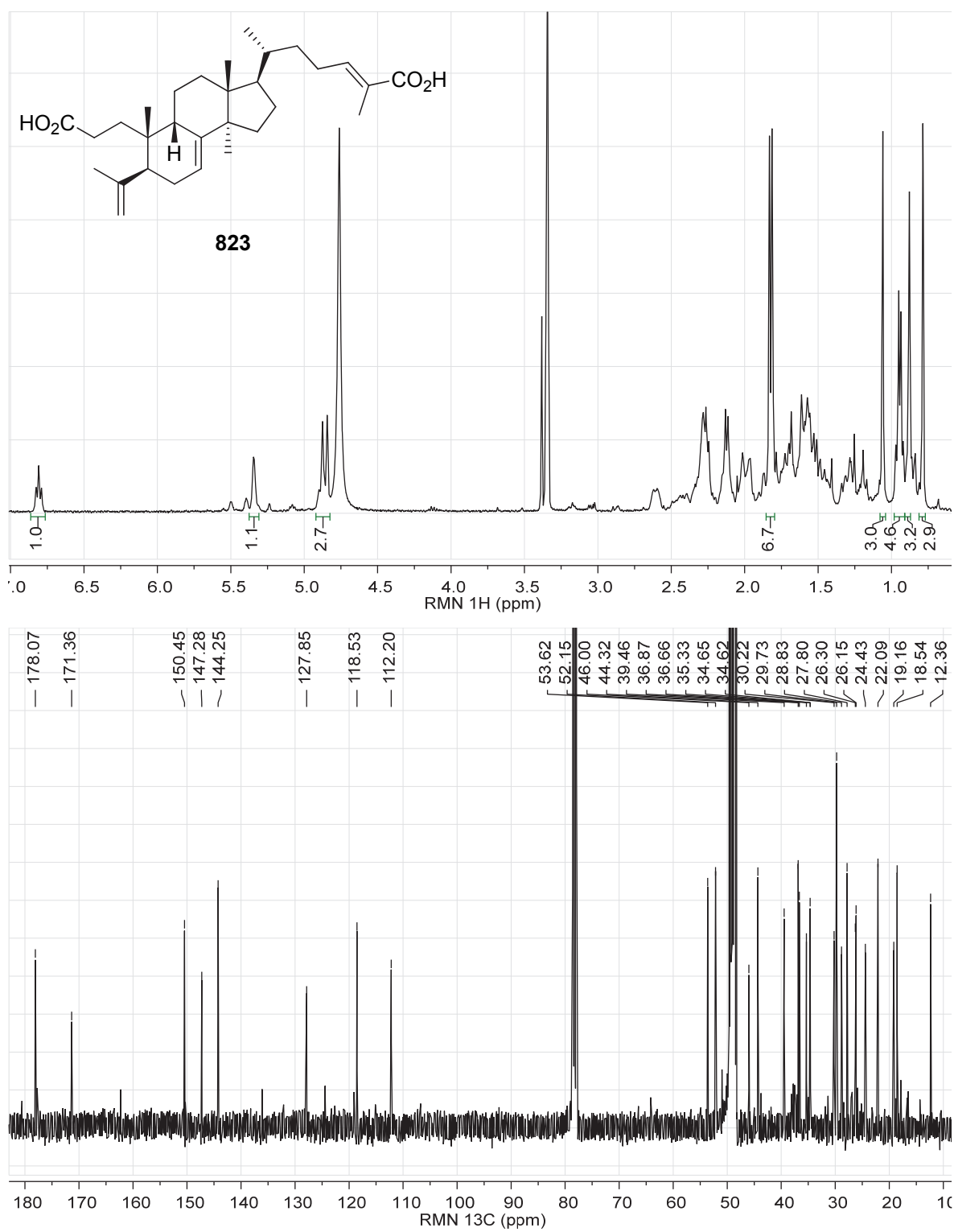


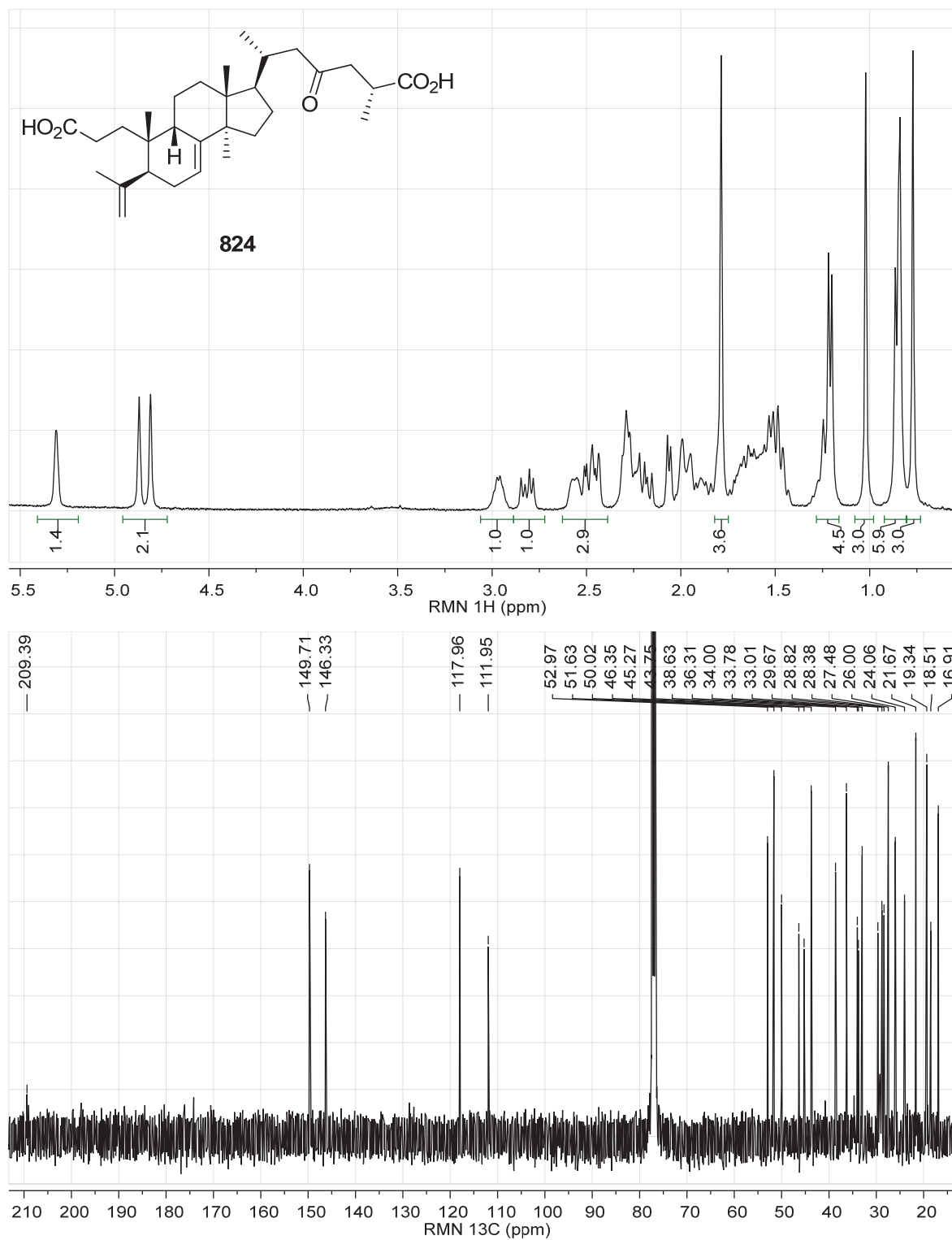


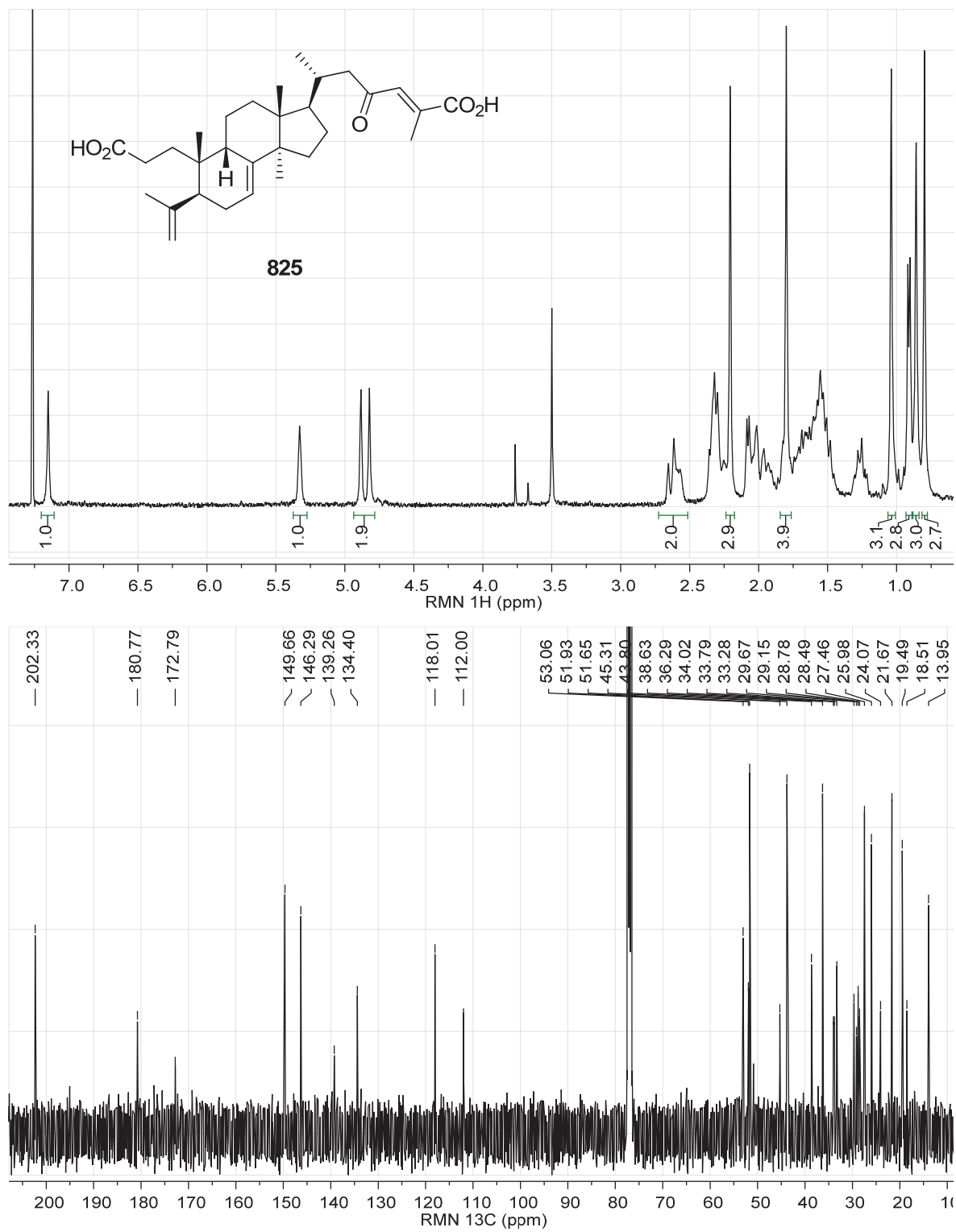


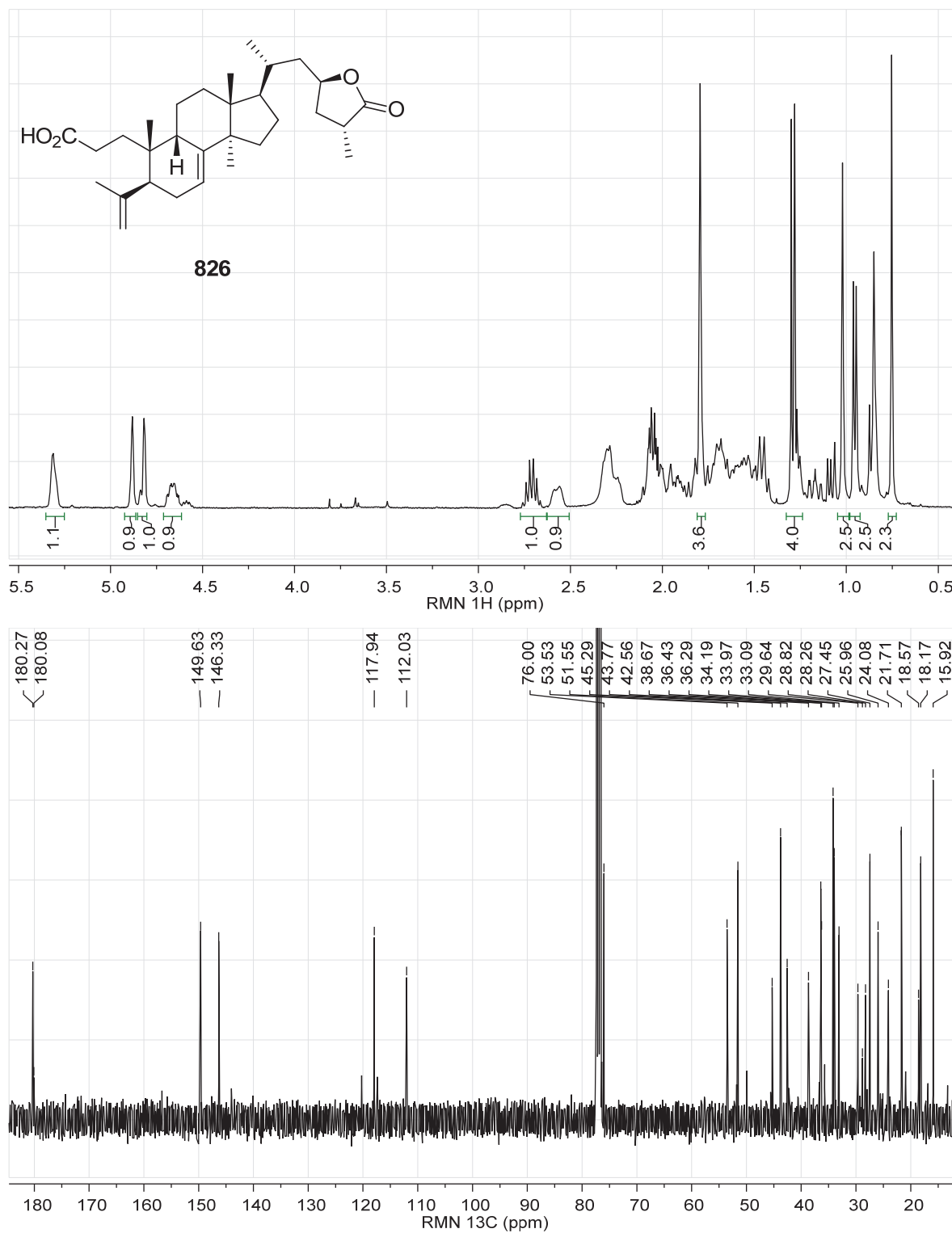


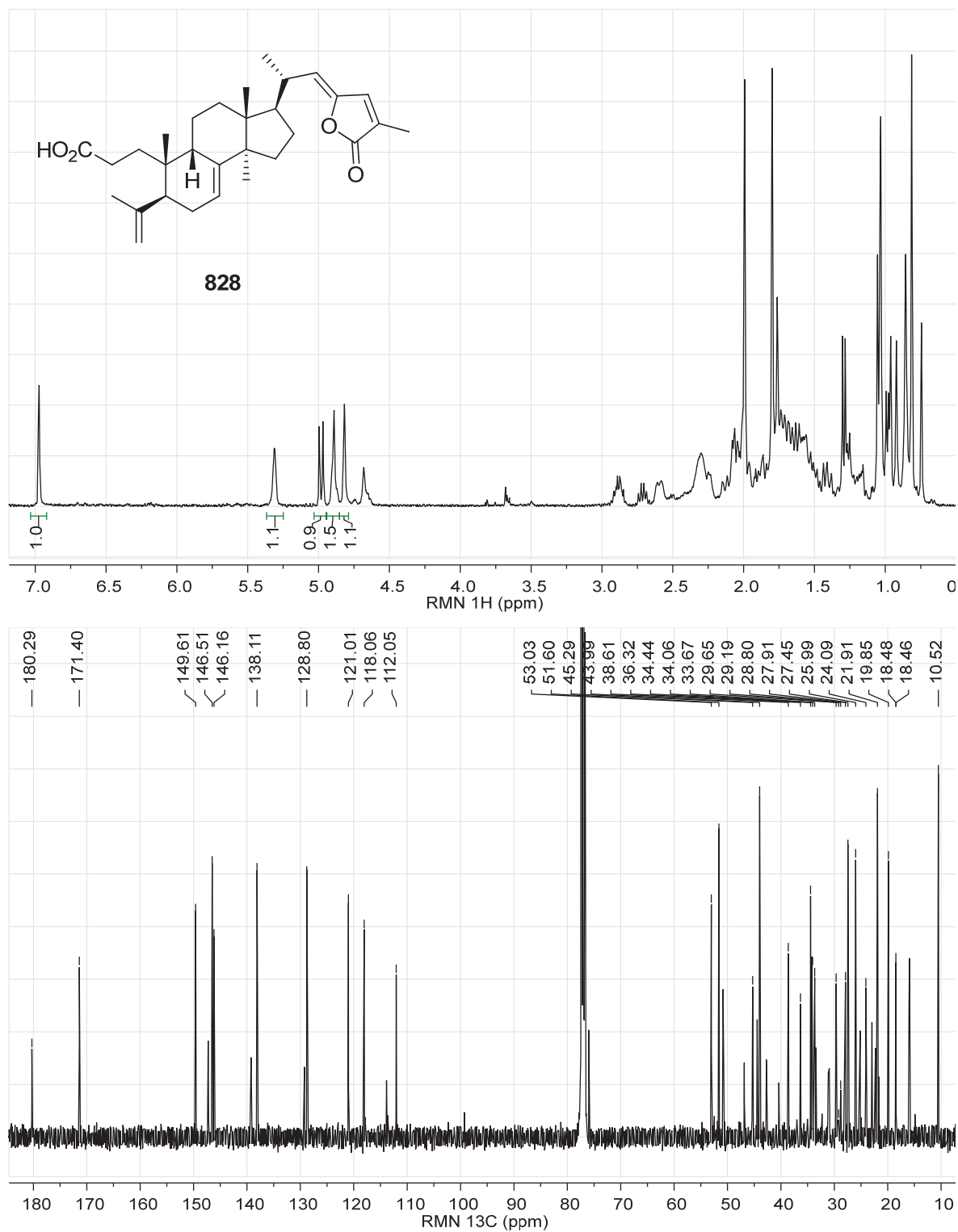


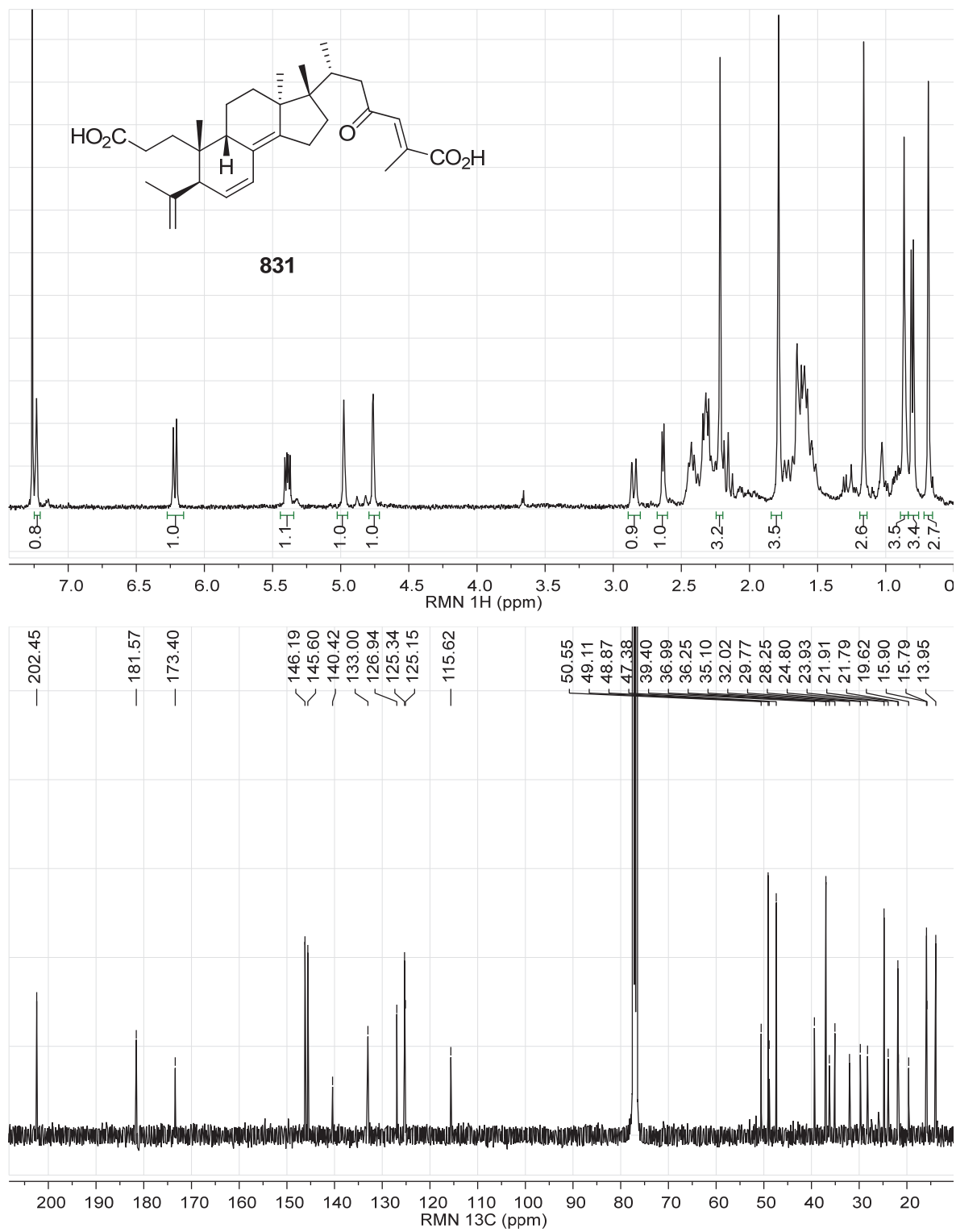


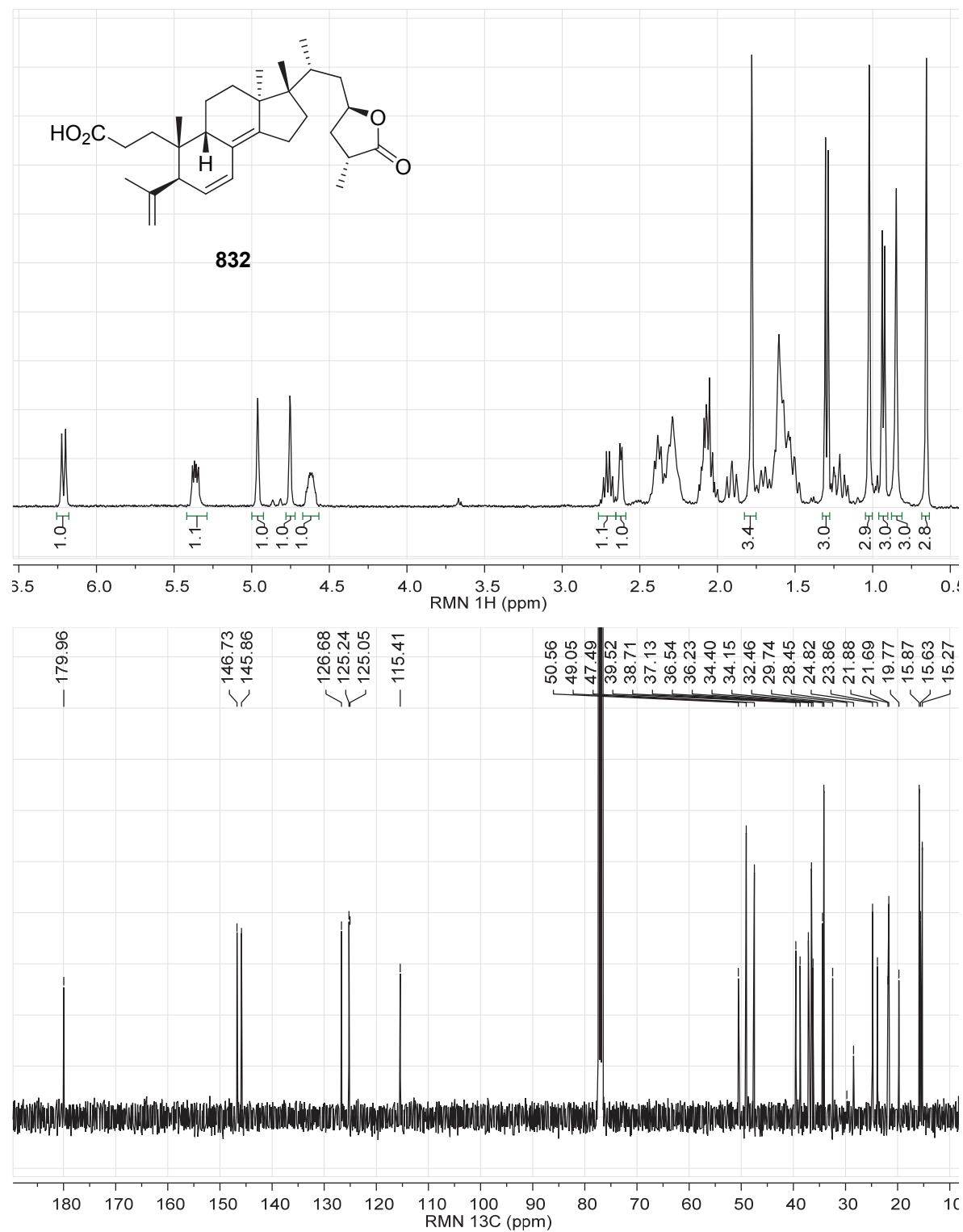


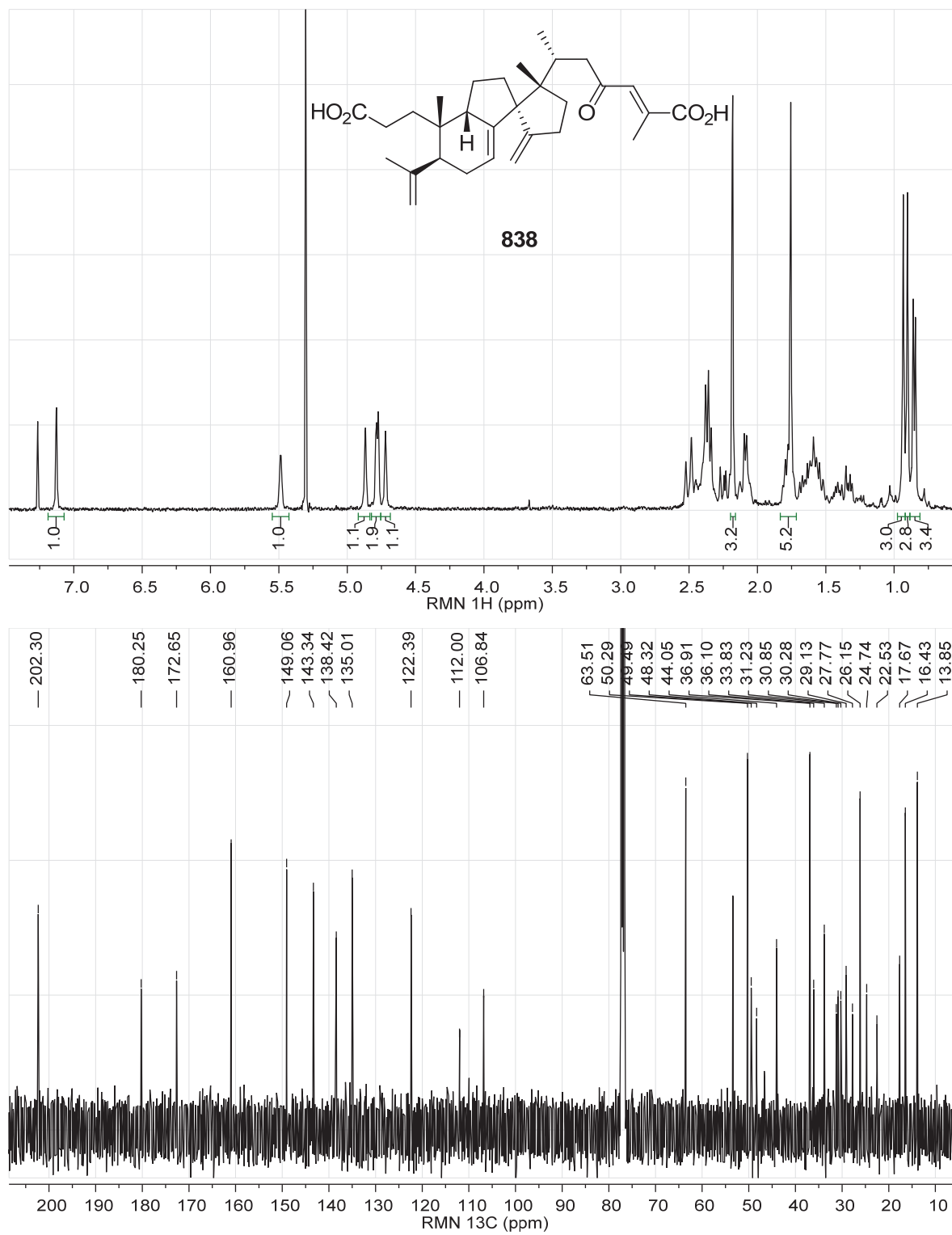


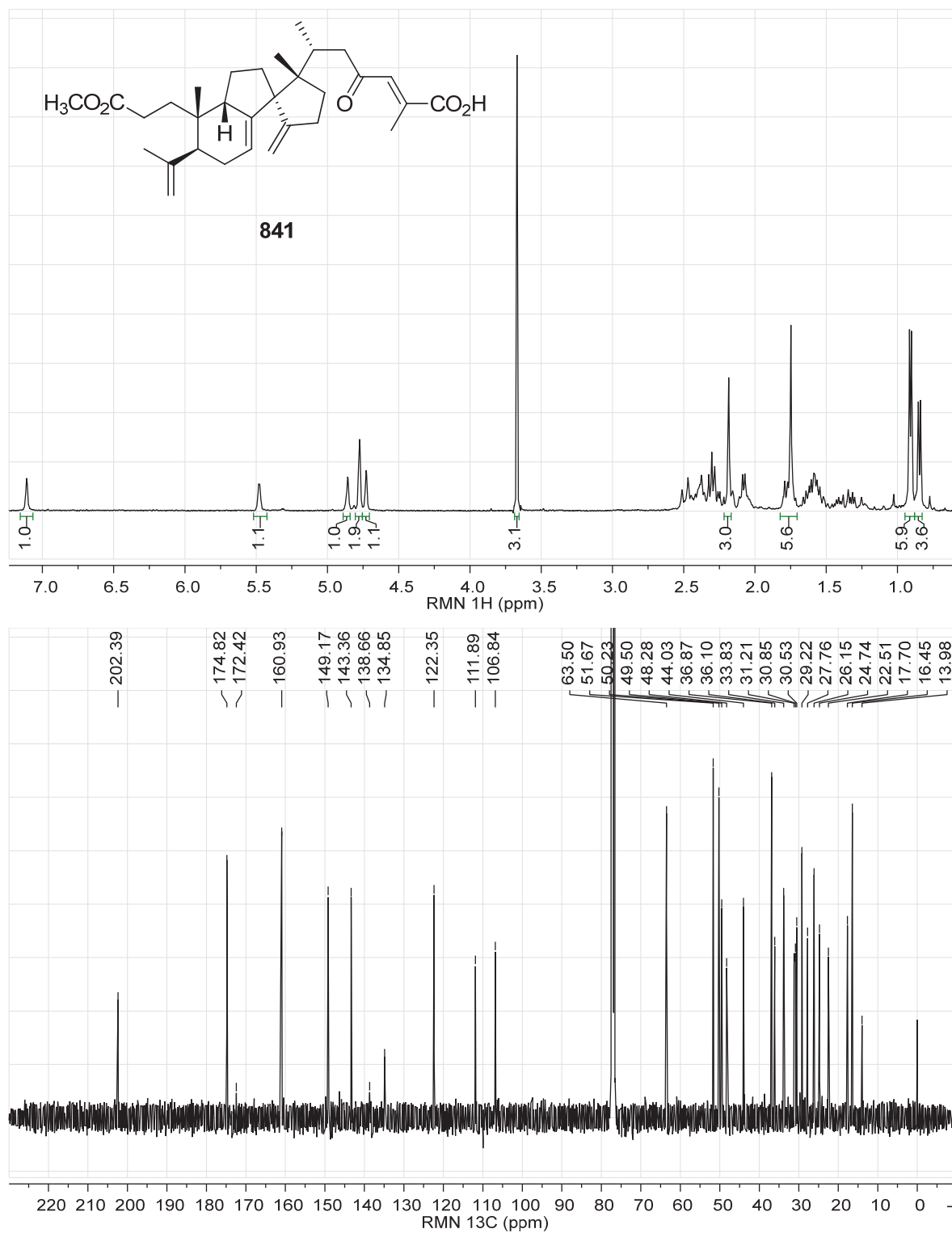












CHAPITRE 5
ANALYSE DE TÉTRATERPÈNES DIASTÉRÉOISOMÉRIQUES

1. PROLOGUE

Les travaux sur l'oléorésine du sapin ont permis d'isoler des terpènes qui n'avaient jamais été rapportés dans la littérature. Ces résultats ont fait l'objet de deux articles et d'une présentation orale :

- article dans le journal "*Organic Letters*" (chapitre 3) portant sur deux tétraterpènes isolés dans l'oléorésine du sapin baumier (*Abies balsamea*) ;
- article dans le journal "*Beilstein Journal of Organic Chemistry*" (chapitre 4) portant sur les triterpènes isolés dans l'oléorésine du sapin baumier (*Abies balsamea*) ;
- présentation orale au congrès "*Trends in Natural Products Research 2014*" à Olomouc en République Tchèque, du 23 au 25 juin 2014, et portant sur la caractérisation de huit tétraterpènes isolés dans l'oléorésine du sapin baumier (*Abies balsamea*).

2. INTRODUCTION

Le genre *Abies* comprend plusieurs espèces de conifères [337]. La plupart d'entre eux sont trouvés dans les régions tempérées et boréales de l'hémisphère nord. La première étude sur les sapins a été réalisée il y a plus de 75 ans par Takahashi [347]. Depuis, plus de 900 métabolites secondaires ont été isolés (voir chapitre 2). Le sapin baumier (*Abies balsamea* L. Mill.), le populaire arbre de Noël au Canada, a été utilisé traditionnellement par les peuples autochtones de l'Amérique du Nord comme antiseptique, ainsi que comme remède contre la tuberculose et les maladies vénériennes [338]. L'oléorésine était elle aussi utilisée par les autochtones pour traiter les ecchymoses, les brûlures, les fractures, les ulcères ou les plaies [358]. Récemment, le laboratoire LASEVE s'est penché sur les composantes bioactives d'*A. balsamea*. Une première étude a permis de démontrer l'activité anticancéreuse de l'huile essentielle du sapin baumier [9]. De cette même matrice, des sesquiterpènes antibactériens, actifs contre *Staphylococcus aureus*, ont été identifiés [13]. En travaillant sur l'oléorésine recueillie de l'écorce du sapin baumier, deux tétraterpènes ont été isolés avec un squelette unique (chapitre 3). Des triterpènes de type séco-lanostane ou cycloartane ont également été isolés (chapitre 4). Lors des travaux sur les tétraterpènes, d'autres molécules de même nature avaient été isolées. La caractérisation détaillée de ces derniers tétraterpènes sera présentée dans ce chapitre.

3. MATÉRIELS ET MÉTHODES

3.1. Considérations générales

Les mesures de rotation spécifique ont été effectuées sur un polarimètre Autopol IV. Les spectres infrarouges ont été enregistrés sur un appareil SpectrumOne de Perkin-Elmer. Pour ce faire, les substances, en solution dans le CHCl_3 , ont été déposées sur une pastille de NaCl puis séchées avant l'analyse. Les spectres RMN 1D et 2D (^1H - ^1H COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, ROESY et NOESY) ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre Avance 400 de Bruker (400,13 MHz pour ^1H et 100,61 MHz pour ^{13}C). L'appareil était équipé d'une sonde QNP de 5 mm. Tous les spectres ont été enregistrés dans le chloroforme et les déplacements chimiques en ppm (δ) ont été étalonnés avec le tétraméthylsilane (TMS). Les spectres de dichroïsme circulaire (ECD) ont été enregistrés dans du chloroforme avec un spectrophotomètre Jasco J-815 CD. Les spectres de masse à haute résolution ont été obtenus par ionisation positive grâce à un électronébuliseur (HRESIMS), sur un appareil Agilent 6210 TOF. Les spectres de masse à faible résolution ont été enregistrés par ionisation négative à pression atmosphérique (APCI), avec un appareil G1946 VL d'Agilent. Ce dernier était couplé avec un chromatographe en phase liquide (HPLC) de la série 1100 d'Agilent, constitué d'un dégazeur, d'une pompe quaternaire, d'un échantillonneur automatique, d'un compartiment à colonne thermorégulé et d'un détecteur à barrette de photodiodes. Les séparations en mode analytique ont été effectuées sur une colonne Inertsil prep-ODS C18 (6,0 \times 250 mm, 10 μm) en utilisant un système d'éluant $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ acidifié avec de l'acide formique (pH 4). Les séparations en mode préparatif ont été réalisées sur une colonne Inertsil prep-ODS C18 (20,0 \times 250 mm, 10 μm), en utilisant un détecteur à longueur d'onde multiple et un collecteur de fraction automatique. Les solvants ont été achetés chez VWR. Les plaques CCM (gel de silice avec indicateur F_{254} , 250 μm sur feuille d'aluminium) et le gel de silice pour les séparations sur colonne (40-63 μm) ont été achetés chez Silicycle. Des séparations sur colonne ont été effectuées avec du gel de polyamide, acheté chez Macherey-Nagel. Les systèmes d'éluants pour les analyses sur CCM sont : hexane/EtOAc 3:1 ; $\text{CHCl}_3/\text{EtOAc}$ 80:1 à 20:1 ; $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 40:1. Les produits ont été révélés par pulvérisation de H_2SO_4 (20% dans MeOH) suivi d'un chauffage à 100 °C.

3.2. Matériel végétal

L'oléorésine du sapin baumier (*Abies balsamea* Mill.) a été récoltée par M. Marcel Pichette durant l'été 2007 sur le territoire de la ville de Saguenay (Québec, Canada). Un spécimen provenant

d'un des arbres impliqués dans la récolte a été identifié par M. Patrick Nadeau du département des Sciences fondamentales de l'UQAC et déposé à l'herbarium Louis-Marie de l'université Laval (QFA0579436).

3.3. Isolement des composés¹⁵

L'isolement des composés a été abordé en fractionnant 500 g d'oléorésine sur une colonne ouverte de gel de silice avec un gradient d'éluant hexane/EtOAc (100:0 → 93:7). La colonne a ensuite été rincée avec du MeOH. La partie non-polaire a été éliminée et les fractions obtenues avec hexane/EtOAc 93:7 et MeOH ont été combinées puis évaporées sous vide pour obtenir une gomme brune (75 g). Une partie de cette gomme (60 g) a été fractionnée sur gel de silice en utilisant différentes proportions d'hexane et d'EtOAc comme éluant : 3:1 (fraction I, 14 g) ; 2:1 (fraction II, 19 g) ; 1:1 et MeOH (fraction III, 21,5 g). La fraction II a été séparée sur gel de silice avec hexane/EtOAc 3:1 pour produire cinq fractions (IIA-IIIE). Finalement, la fraction IIC a été séparée par HPLC préparatif avec un mélange H₂O/MeOH (20:80 → 0:100) pour obtenir les composés **1061** (3,8 mg), **1062** (21,7 mg), **1063** (36 mg), **1064** (3,5 mg), **1065** (6,3 mg), **1066** (4,8 mg), **1067** (6,3 mg) et **1068** (28,6 mg).

3.4. Données physiques et spectroscopiques des composés 1061-1068

Abibalsamine C ou acide (5*S*,10*S*,13*R*,17*S*,21*R*,24*S*,25*S*)-24,25-[3-(4-méthylpent-3-ényl)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-17,13-friedo-8(14→13)abéo-9βH-lanosta-4(28),7,14(30)-triène-3,26-dioïque (1061) : Solide amorphe ; $[\alpha]^{20}_D -19,7$ (*c* 0,4, CHCl₃) ; IR (film) ν_{\max} 3425 (br), 2964 (s), 1706 (s), 1378 (m), 1261 (m), 757 (m) cm⁻¹ ; RMN ¹H et ¹³C, voir tableaux 36 et 37 ; HRESIMS *m/z* 619,4351 [M+H]⁺ (calculé pour C₄₀H₅₉O₅, 619,4357).

Abibalsamine E ou acide (5*S*,10*S*,13*R*,14*R*,17*R*,21*R*,24*R*,25*R*)-24,25-[3-(4-méthylpent-3-ényl)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-9βH-lanosta-4(28),7-diène-3,26-dioïque (1062) : Solide amorphe ; $[\alpha]^{20}_D -18,6$ (*c* 1,1, CHCl₃) ; IR (film) ν_{\max} 3420 (br), 2952 (s), 1705 (s), 1639 (m), 1376 (m), 1287 (m), 757 (s) cm⁻¹ ; RMN ¹H et ¹³C, voir tableaux 36 et 37 ; HRESIMS *m/z* 621,4508 [M+H]⁺ (calculé pour C₄₀H₆₁O₅, 621,4514).

¹⁵ Les travaux en laboratoire pour isoler les composés ont été réalisés par Dr. Vakhtang Mshvildadze.

Abibalsamine F ou acide (5*S*,10*R*,13*S*,17*S*,21*R*,24*R*,25*R*)-24,25-[2-(4-méthylpent-3-ényl)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-9 β H-lanosta-4(28),6,8(14)-triène-3,26-dioïque (1063) : Solide amorphe ; $[\alpha]^{20}_D -131,2$ (*c* 1,0, CHCl₃) ; IR (film) ν_{\max} 3417 (br), 2964 (s), 1704 (s), 1460 (m), 1375 (m), 1295 (m), 1278 (m), 757 (s) cm⁻¹ ; RMN ¹H et ¹³C, voir tableaux 36 et 37 ; HRESIMS *m/z* 619,4346 [M+H]⁺ (calculé pour C₄₀H₅₉O₅, 619,4357).

Abibalsamine G ou acide (5*S*,10*R*,13*S*,17*S*,21*R*,24*S*,25*S*)-24,25-[3-(4-méthylpent-3-ényl)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-9 β H-lanosta-4(28),6,8(14)-triène-3,26-dioïque (1064) : Solide amorphe ; $[\alpha]^{20}_D -142,0$ (*c* 0,4, CHCl₃) ; IR (film) ν_{\max} 3424 (br), 2964 (m), 1704 (s), 1638 (m), 1372 (w), 1293 (w) cm⁻¹ ; RMN ¹H et ¹³C, voir tableaux 36 et 37 ; HRESIMS *m/z* 619,4350 [M+H]⁺ (calculé pour C₄₀H₅₉O₅, 619,4357).

Abibalsamine H ou acide (5*S*,10*R*,13*S*,17*S*,21*R*,24*R*,25*R*)-24,25-[3-(4-méthylpent-3-ényl)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-9 β H-lanosta-4(28),6,8(14)-triène-3,26-dioïque, 3-méthyl ester (1065) : Solide amorphe ; $[\alpha]^{20}_D -117,7$ (*c* 1,0, CHCl₃) ; IR (film) ν_{\max} 2949 (s), 1708 (s), 1437 (m), 1374 (m), 1279 (m), 1192 (m), 756 (s) cm⁻¹ ; RMN ¹H et ¹³C, voir tableaux 38 et 39 ; HRESIMS *m/z* 633,4516 [M+H]⁺ (calculé pour C₄₁H₆₁O₅, 633,4514).

Abibalsamine D ou acide (5*S*,10*S*,13*R*,17*S*,21*R*,24*R*,25*R*)-24,25-[2-(4-méthylpent-3-ényl)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-17,13-friedo-8(14→13)abéo-9 β H-lanosta-4(28),7-14(30)-triène-3,26-dioïque (1066) : Solide amorphe ; $[\alpha]^{20}_D -27,8$ (*c* 0,2, CHCl₃) ; IR (film) ν_{\max} 3409 (br), 2964 (s), 1707 (s), 1644 (m), 1450 (m), 1377 (m), 1261 (m), 801 (s), 757 (s) cm⁻¹ ; RMN ¹H et ¹³C, voir tableaux 38 et 39 ; HRESIMS *m/z* 619,4349 [M+H]⁺ (calculé pour C₄₀H₅₉O₅, 619,4357).

Abibalsamine I ou acide (5*S*,10*R*,13*S*,17*S*,21*R*,24*S*,25*S*)-24,25-[2-(4-méthylpent-3-ényl)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-9 β H-lanosta-4(28),6,8(14)-triène-3,26-dioïque (1067) : Solide amorphe ; $[\alpha]^{20}_D -157,9$ (*c* 0,6, CHCl₃) ; IR (film) ν_{\max} 3430 (br), 2965 (m), 1705 (m), 1639 (m), 1375 (w), 1293 (w), 756 (m) cm⁻¹ ; RMN ¹H et ¹³C, voir tableaux 38 et 39 ; HRESIMS *m/z* 619,4349 [M+H]⁺ (calculé pour C₄₀H₅₉O₅, 619,4357).

Abibalsamine J ou acide (5*S*,10*R*,13*S*,17*S*,21*R*,24*R*,25*R*)-24,25-[3-(4-méthylpent-3-ényl)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-9 β H-lanosta-4(28),6,8(14)-triène-3,26-dioïque (1068) : Solide amorphe ; $[\alpha]^{20}_D -164,1$ (*c* 1,0, CHCl₃) ; IR (film) ν_{\max} 2964 (m), 1706 (s), 1372 (w), 1292 (w), 756

(w) cm^{-1} ; RMN ^1H et ^{13}C , voir tableaux 38 et 39 ; HRESIMS m/z 619,4352 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calculé pour $\text{C}_{40}\text{H}_{59}\text{O}_5$, 619,4357).

3.5. Modélisation des spectres de dichroïsme circulaire (ECD)

Un nombre très important de conformères a été généré pour chacun des composés **1063**, **1064**, **1067** et **1068**. Pour ce faire, le logiciel Spartan [359], installé sur un ordinateur conventionnel (Processeur AMD Athlon II X3 455, 3,3 GHz, mémoire DDRII 4 Go, avec CentOS en machine virtuelle), a été utilisé avec un champ de force de type MMFFs. Ainsi, les groupes situés aux positions C-5, C-10, C-17 et C-32/33 ont été marqués comme degré de liberté (figure 65). Le logiciel crée le conformère, optimise celui-ci selon le champ de force MMFFs, puis calcule l'énergie contenue dans la molécule selon cette équation :

$$E = E_{\text{lien}} + E_{\text{angle}} + E_{\text{torsion}} + E_{\text{électrostatique}} + E_{\text{van der Waals}}$$

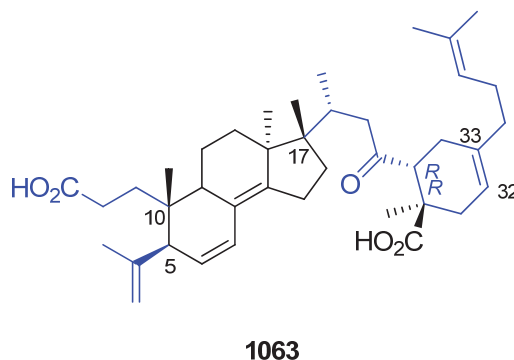


Figure 65 : Liens libres de rotation (en bleu) pour la génération des conformères

Les 100-200 conformères les plus stables obtenus ($\Delta E < 4,18 \text{ kJ mol}^{-1}$) ont été soumis au logiciel Gaussian [360] pour optimiser leur géométrie et calculer les paramètres thermodynamiques. Ce logiciel est installé sur le supercalculateur Grex qui est situé à l'Université du Manitoba et dont l'accès est possible via Calcul Canada. Cet ordinateur (SGI Altix XE 1300) comprend 316 nœuds de calcul, dont chacun est constitué de 6 processeurs (Intel Xeon X5650 2,66 GHz) et de 48 Go de mémoire. Ces nœuds sont interconnectés via un réseau Infiniband 4X QDR. L'optimisation de la géométrie a été réalisée par la théorie de la fonctionnelle de densité (DFT) en utilisant le jeu d'orbitales 3-21g et les fonctionnelles B3LYP. Les paramètres thermodynamiques, ainsi que les spectres infrarouges ont

aussi été calculés. L'énergie libre de Gibbs (ΔG) a ensuite été utilisée pour classer et calculer la proportion de chaque conformère grâce à l'équation de distribution de Boltzmann :

$$\frac{N_i}{N} = \frac{e^{-E_i/kT}}{\sum_i e^{-E_i/kT}}$$

Les conformères les plus stables ($> 2\%$) ont ensuite été soumis au calcul des transitions électroniques, toujours avec le logiciel Gaussian. Ainsi, 40 transitions ont été calculées en utilisant le DFT dépendant du temps (TDDFT). Les mêmes orbitales (3-21g) et fonctionnelles (B3LYP) que pour l'optimisation de la géométrie ont été utilisées. L'énergie de chacune des transitions (ΔE) et le coefficient de force rotationnelle (R) associé ont été utilisés pour calculer un spectre ECD grâce à l'équation suivante :

$$\Delta\epsilon(E) = \frac{\sum_i \Delta E_i R_i e^{-[(E-\Delta E_i)/2\sigma]^2}}{2,297 \times 10^{-39} \sqrt{2\pi\sigma}}$$

Le coefficient d'élargissement des bandes (σ) qui a été utilisé dans cette équation est de 0,20 eV.

Les distances moyennes, mesurées sur les modèles, sont calculées sachant que celles-ci sont inversement proportionnelles aux corrélations ROESY [361] :

$$r = r_{ref} \sqrt[6]{\frac{I_{ref}}{I}}$$

$$I r^6 = I_{ref} r_{ref}^6$$

$$I = \frac{I_{ref} r_{ref}^6}{r^6}$$

Pour rendre les distances utiles, une équation a été développée afin de pouvoir comparer les distances avec les corrélations ROESY. Le spectre ROESY d'une molécule est la moyenne pondérée des spectres ROESY de chaque conformère :

$$I_{spectre} = \frac{N_1 I_1 + N_2 I_2 + \dots + N_i I_i}{\sum_i N_i}$$

L'équation précédente y est introduite :

$$I_{spectre} = \frac{N_1 \frac{I_{ref} r_{ref}^6}{r_1^6} + N_2 \frac{I_{ref} r_{ref}^6}{r_2^6} + \dots + N_i \frac{I_{ref} r_{ref}^6}{r_i^6}}{\sum_i N_i}$$

$$I_{spectre} = I_{ref} r_{ref}^6 \frac{\frac{N_1}{r_1^6} + \frac{N_2}{r_2^6} + \dots + \frac{N_i}{r_i^6}}{\sum_i N_i} = I_{ref} r_{ref}^6 \frac{\sum_i \frac{N_i}{r_i^6}}{\sum_i N_i}$$

$$\frac{I_{spectre} \sum_i N_i}{\sum_i \frac{N_i}{r_i^6}} = I_{ref} r_{ref}^6$$

Et donc,

$$r_{spectre}^6 = \frac{\sum_i N_i}{\sum_i \frac{N_i}{r_i^6}}$$

$$r_{spectre} = \sqrt[6]{\frac{\sum_i N_i}{\sum_i \frac{N_i}{r_i^6}}}$$

3.6. Évaluation de la cytotoxicité¹⁶

Les lignées cellulaires, soit les carcinomes pulmonaires (A549, CCL-185), les adénocarcinomes colorectaux (DLD-1, CCL-221) et les fibroblastes dermiques (WS1, CCL-1502), ont été obtenues de la "American Type Culture Collection" (ATCC). Toutes les lignées ont été cultivées dans un milieu minimum essentiel contenant des sels équilibrés d'Earle et de la L-glutamine (Mediatech Cellgro) et auquel ont été ajoutés du sérum fœtal bovin (10 %, Hyclone), des vitamines (1×), de la pénicilline (100 I.U. ml⁻¹), de la streptomycine (100 µg ml⁻¹), des acides aminés non-essentiels (1×) et du pyruvate de sodium (1×) (Mediatech Cellgro). Les cellules ont été maintenues à 37 °C dans un environnement humidifié contenant 5 % de CO₂. Les cellules, dans leur phase exponentielle de croissance, ont été mises en plaques 96 puits (Costar, Corning Inc.) à une densité de 5 000 cellules

¹⁶ Les tests d'activité biologique ont été réalisés par Mme Catherine Dussault.

par puits (100 μ l) et laissées pour adhérer pendant 16 h avant toute intervention. Une série géométrique de concentrations en triplicata de chaque composé dissout dans le DMSO a été ajoutée (100 μ l par puit) avant d'incuber les cellules pour 48 h. La concentration finale de DMSO dans le milieu de culture a été maintenue à 0,5 % (v/v) pour éviter la toxicité du solvant. La cytotoxicité a été évaluée en utilisant le test de réduction de la résazurine [356]. Pour ce faire, un spectrophotomètre automatique pour plaque 96 puits (Fluoroskan Ascent F1, Labsystems) a été utilisé avec des longueurs d'onde d'excitation et d'émission de 530 et 590 nm, respectivement. La fluorescence mesurée est proportionnelle à l'activité métabolique des cellules dans chaque puit. Le taux de survie des cellules a été calculé à partir de la fluorescence des cellules traitées comparée à celle des cellules incubées uniquement avec le DMSO (contrôle). La cytotoxicité est exprimée par la moyenne des concentrations inhibant 50 % de la croissance cellulaire.

4. RÉSULTATS ET DISCUSSION

4.1. Caractérisation des composés **1061-1068**

Lors des travaux sur l'oléorésine du sapin baumier (*Abies balsamea*), huit composés ont été isolés (voir détails à la section 3.3, p. 235). La caractérisation des composés est décrite à la suite. À ce stade, la stéréochimie n'y sera pas discutée. Cet aspect important du travail sera traité de manière détaillée à la section 4.2, présentée à la suite (p. 252).

La mesure de l'indice de rotation du composé **1061** indique qu'il est lévogyre ($[\alpha]_D^{20} -19,7^\circ$, c 0,4, CHCl_3). Lors de l'acquisition du spectre HRESIMS, un ion pseudomoléculaire à m/z 641,4173 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) a été détecté, ce qui suggère une formule moléculaire de $\text{C}_{40}\text{H}_{58}\text{O}_5$ (p. 280). Une bande d'absorption infrarouge intense à 1706 cm^{-1} implique la présence d'une fonction carbonyle (voir p. 280). L'analyse des spectres ^{13}C , DEPT135 (p. 281) et HSQC a permis de révéler la présence de sept méthyles, douze méthylènes sp^3 , quatre méthines sp^3 , quatre carbones quaternaires sp^3 , deux méthylènes sp^2 , trois méthines sp^2 et huit carbones quaternaires sp^2 . Rapidement, il a été observé que le composé **1061** était constitué d'un système de type lanostane avec un réarrangement de type 3,4-séco-, tout comme pour l'acide abiésonique (**838**) [220] et l'abibalsamine A (**855**) [198]. De plus, une chaîne latérale similaire à celle de l'abibalsamine A (**855**) a été détectée pour le composé **1061**. La position de la chaîne latérale sur le cycle à 6 membres du composé **1061** semble être différente de celle de l'abibalsamine A (**855**). En effet, une corrélation COSY entre H-33 et H-34 suggère que le groupe isohexényle est lié en position C-32 (figure 66). L'assignation des positions 39 et 40 a été possible grâce à une corrélation NOESY entre le Me-39 et le proton alcénique H-37. À partir des données spectroscopiques complètes (tableaux 36-37), le composé **1061** a été identifié comme étant l'acide 24,25-[3-(4-méthylpent-3-ényl)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-17,13-friedo-8(14→13)abéo-9βH-lanosta-4(28),7,14(30)-triène-3,26-dioïque et nommé abibalsamine C.

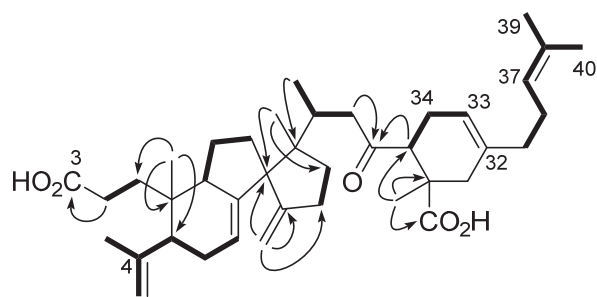
**1061**

Figure 66 : Corrélations COSY (—) et HMBC (→) les plus importantes du composé **1061**

Tableau 36 : Données RMN ^{13}C (CDCl_3) des composés **1061-1064**

Position	δ_c (mult.)			
	1061	1062	1063	1064
1	30,46 (t)	28,66 (t)	28,89 (t)	29,00 (t)
2	29,96 (t)	29,25 (t)	30,23 (t)	30,28 (t)
3	179,85 (s)	181,01 (s)	181,35 (s)	181,50 (s)
4	149,26 (s)	149,70 (s)	145,82 (s)	145,82 (s)
5	44,04 (d)	45,27 (d)	50,61 (d)	50,62 (d)
6	30,91 (t)	29,69 (t)	126,55 (d)	126,54 (d)
7	122,05 (d)	117,78 (d)	125,33 (d)	125,34 (d)
8	143,86 (s)	146,44 (s)	124,96 (s)	124,95 (s)
9	49,33 (d)	38,59 (d)	39,47 (d)	39,46 (d)
10	36,91 (s)	36,24 (s)	37,13 (s)	37,17 (s)
11	22,71 (t)	18,52 (t)	19,78 (t)	19,79 (t)
12	31,22 (t)	33,80 (t)	32,16 (t)	32,18 (t)
13	63,50 (s)	43,73 (s)	47,40 (s)	47,40 (s)
14	161,44 (s)	51,63 (s)	146,84 (s)	146,86 (s)
15	28,03 (t)	33,94 (t)	23,85 (t)	23,86 (t)
16	36,05 (t)	28,21 (t)	35,92 (t)	35,94 (t)
17	50,30 (s)	53,28 (d)	48,66 (s)	48,67 (s)
18	18,03 (q)	21,63 (q)	16,24 (q)	16,20 (q)
19	24,74 (q)	24,06 (q)	21,87 (q)	21,86 (q)
20	34,71 (d)	32,21 (d)	32,52 (d)	32,68 (d)
21	16,31 (q)	19,83 (q)	17,03 (q)	16,94 (q)
22	45,44 (t)	49,42 (t)	45,60 (t)	45,12 (t)
23	213,05 (s)	212,06 (s)	211,69 (s)	211,50 (s)
24	51,50 (d)	50,28 (d)	50,72 (d)	50,47 (d)
25	43,38 (s)	43,73 (s)	43,03 (s)	43,26 (s)
26	183,47 (s)	184,26 (s)	184,70 (s)	184,70 (s)
27	16,21 (q)	15,82 (q)	15,84 (q)	15,89 (q)
28	112,12 (t)	111,99 (t)	115,47 (t)	115,48 (t)
29	26,30 (q)	26,02 (q)	24,82 (q)	24,81 (q)
30	106,65 (t)	27,49 (q)	21,98 (q)	22,01 (q)
31	40,33 (t)	40,50 (t)	37,75 (t)	40,68 (t)
32	135,63 (s)	135,64 (s)	118,38 (d)	135,69 (s)
33	118,30 (d)	118,26 (d)	135,65 (s)	118,32 (d)
34	25,62 (t)	25,48 (t)	28,55 (t)	25,59 (t)
35	37,36 (t)	37,29 (t)	37,02 (t)	37,30 (t)
36	26,27 (t)	26,25 (t)	26,29 (t)	26,27 (t)
37	123,77 (d)	123,76 (d)	123,80 (d)	123,76 (d)
38	131,77 (s)	131,78 (s)	131,83 (s)	131,76 (s)
39	25,71 (q)	25,71 (q)	25,72 (q)	25,70 (q)
40	17,76 (q)	17,76 (q)	17,74 (q)	17,76 (q)

Tableau 37 : Données RMN ^1H (CDCl_3) des composés **1061-1064**

Position	δ_{H} (mult., J en Hz)			
	1061	1062	1063	1064
1	1,74 (m) 1,63 (m)	1,72 (1H, m) 1,58 (m)	1,59 (2H, m)	1,59 (2H, m)
2	2,32 (2H, m)	2,31 (2H, m)	2,25 (2H, m)	2,25 (2H, m)
5	2,07 (m)	2,08 (m)	2,63 (d, 5,5)	2,63 (m)
6	2,39 (m) 2,14 (m)	2,27 (m) 1,98 (m)	5,37 (m)	5,37 (dd, 9,9, 5,4)
7	5,44 (d, 3,6)	5,31 (d, 3,5)	6,23 (d, 9,9)	6,23 (d, 9,9)
9	2,09 (m)	2,59 (m)	2,41 (m)	2,40 (m)
11	1,59 (m) 1,40 (m)	1,64 (m) 1,55 (m)	1,58 (2H, m)	1,57 (2H, m)
12	1,78 (m) 1,31 (m)	1,81 (m) 1,66 (m)	1,60 (2H, m)	1,59 (2H, m)
15	2,45 (m) 2,35 (m)	1,52 (m) 1,46 (m)	2,35 (2H, m)	2,35 (2H, m)
16	1,54 (2H, m)	1,87 (2H, m)	1,74 (m) 1,48 (m)	1,73 (m) 1,47 (m)
17		1,49 (m)		
18	0,87 (3H, s)	0,78 (3H, s)	0,68 (3H, s)	0,67 (3H, s)
19	0,93 (3H, s)	0,84 (3H, s)	0,84 (3H, s)	0,84 (3H, s)
20	2,30 (m)	2,05 (m)	2,39 (m)	2,38 (m)
21	0,80 (3H, d, 5,2)	0,84 (3H, d, 5,3)	0,80 (3H, d, 6,6)	0,79 (3H, d, 6,2)
22	2,31 (m) 2,17 (m)	2,56 (m) 2,21 (m)	2,72 (d, 17,2) 2,28 (m)	2,67 (m) 2,29 (m)
24	2,92 (dd, 11,9, 5,2)	3,02 (dd, 12,0, 5,4)	3,03 (dd, 12,3, 5,2)	2,99 (dd, 12,2, 5,4)
27	1,26 (3H, s)	1,25 (3H, s)	1,29 (3H, s)	1,28 (3H, s)
28	4,81 (2H, s)	4,88 (s) 4,81 (s)	4,97 (s) 4,76 (s)	4,97 (s) 4,76 (s)
29	1,76 (3H, s)	1,79 (3H, s)	1,78 (3H, s)	1,78 (3H, s)
30	4,74 (s) 4,70 (s)	1,03 (3H, s)	1,00 (3H, s)	1,00 (3H, s)
31	2,37 (m) 1,93 (m)	2,37 (m) 1,93 (m)	2,36 (m) 2,03 (m)	2,34 (m) 1,93 (m)
32			5,37 (m)	
33	5,40 (br s)	5,41 (br s)		5,42 (br s)
34	2,35 (m) 1,97 (m)	2,40 (m) 2,03 (m)	2,21 (m) 1,96 (m)	2,41 (m) 1,99 (m)
35	1,99 (2H, m)	2,00 (2H, m)	2,05 (2H, m)	2,00 (2H, m)
36	2,07 (2H, m)	2,07 (2H, m)	2,10 (2H, m)	2,06 (2H, m)
37	5,07 (t, 6,9)	5,07 (t, 6,9)	5,08 (t, 6,2)	5,06 (t, 6,9)
39	1,68 (3H, s)	1,68 (3H, s)	1,68 (3H, s)	1,68 (3H, s)
40	1,60 (3H, s)	1,60 (3H, s)	1,61 (3H, s)	1,60 (3H, s)

Le composé **1062** est lui aussi lévogyre ($[\alpha]_{\text{D}}^{20} -18,6^\circ$, c 1,1, CHCl_3). Un ion pseudomoléculaire à m/z 621,4508 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) a été détecté sur le spectre HRESIMS, ce qui a permis de déduire que la formule moléculaire du composé **1062** est $\text{C}_{40}\text{H}_{60}\text{O}_5$ (p. 282). De plus, un groupe carbonyle a été mis

en évidence grâce à une forte bande d'absorption à 1705 cm^{-1} sur le spectre IR (p. 282). Les données RMN ^{13}C , DEPT135 (tableau 36) et HSQC ont permis de déduire la présence de huit méthyles, douze méthylènes sp^3 , cinq méthines sp^3 , quatre carbones quaternaires sp^3 , un méthylène sp^2 , trois méthines sp^2 et sept carbones quaternaires sp^2 . L'examen attentif des spectres HSQC, COSY et HMBC du composé **1062** a permis de montrer que ce dernier présente le même système 3,4-sécolanostane que pour l'acide (24*E*)-3,4-séco-9 β H-lanosta-4(28),7,24-triène-3,26-dioïque (**825**) [205]. En effet, un lien double a pu être assigné en C-7 à partir de la corrélation COSY entre H-6 et H-7, ainsi qu'à partir de la corrélation HMBC entre H₃-30 et C-8 (figure 67). La chaîne latérale du composé **1062** s'est avérée parfaitement identique à celle du composé **1061**, avec le groupe isohexényl en C-32. Grâce à ces évidences, cette molécule a été identifiée comme étant l'acide 24,25-[3-(4-méthylpent-3-ényl)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-9 β H-lanosta-4(28),7-diène-3,26-dioïque et a été nommée abibalsamine E.

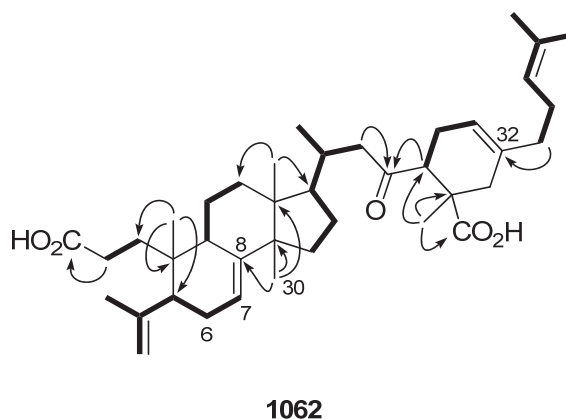
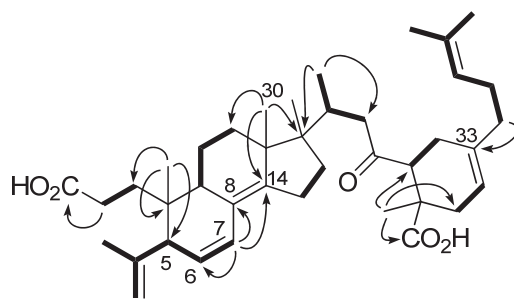


Figure 67 : Corrélations COSY (—) et HMBC (→) les plus importantes du composé **1062**

Le composé **1063**, toujours lévogyre ($[\alpha]_D^{20} -131,2^\circ$, c 1,0, CHCl_3), a produit un ion pseudomoléculaire à m/z 619,4346 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) sur le spectre HRESIMS (p. 284). Cela a permis de déduire que sa formule moléculaire est de $\text{C}_{40}\text{H}_{58}\text{O}_5$. La bande d'absorption à 1704 cm^{-1} sur le spectre IR (p. 284) est caractéristique d'une fonction carbonyle. L'analyse des spectres RMN ^{13}C et DEPT135 (p. 285) a montré la présence de huit méthyles, onze méthylènes sp^3 , quatre méthines sp^3 , quatre carbones quaternaires sp^3 , un méthylène sp^2 , quatre méthines sp^2 et huit carbones quaternaires sp^2 . L'analyse minutieuse des spectres HSQC, COSY et HMBC suggère que le composé **1063** possède un système 3,4-sécolanostane similaire à l'acide sibirique (**831**) [182]. En effet, les doubles liens conjugués ont pu être assignés en C-6 et C-8(14) grâce aux corrélations COSY entre H-5, H-6 et H-

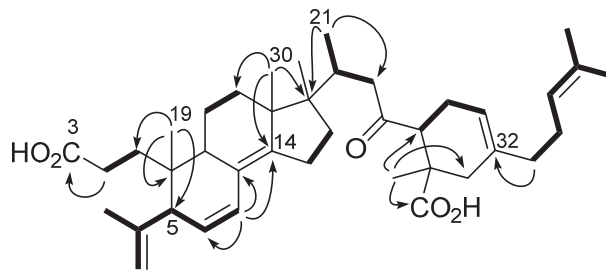
7 ainsi qu'aux corrélations HMBC entre H₃-30 et C-14 et entre H-7 et C-6, C-8 et C-14 (figure 68). La chaîne latérale s'est avérée être la même que pour l'abibalsamine A (**855**) avec le groupe isohexényle en C-33. Le composé **1063** a donc pu être identifié comme étant l'acide 24,25-[2-(4-méthylpent-3-ényle)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-9 β H-lanosta-4(28),6,8(14)-triène-3,26-dioïque et nommé abibalsamine F.



1063

Figure 68 : Corrélations COSY (—) et HMBC (→) les plus importantes du composé **1063**

Le composé **1064**, lévogyre ($[\alpha]_D^{20} -142,0^\circ$, c 0,4, CHCl₃), a généré un ion pseudomoléculaire à m/z 619,4350 ($[M+H]^+$) sur le spectre HRESIMS (p. 286), ce qui suggère comme formule moléculaire C₄₀H₅₈O₅. Une bande d'absorption IR à 1704 cm⁻¹ a révélé la présence d'un groupe carbonyle (p. 286). À partir des données RMN ¹³C et DEPT135 (tableau 36), la présence de huit méthyles, onze méthylènes sp^3 , quatre méthines sp^3 , quatre carbones quaternaires sp^3 , un méthylène sp^2 , quatre méthines sp^2 et huit carbones quaternaires sp^2 a été déduite. L'analyse détaillée des spectres RMN 2D a permis de déterminer que le composé **1064** est constitué d'une partie 3,4-sécolanostane, comme pour les composés **831** et **1063**, et d'une chaîne latérale identique à celle des molécules **1061** et **1062**, c'est-à-dire avec le groupe isohexényle en C-32. Ces faits permettent de conclure que le composé **1064**, nommé abibalsamine G, est l'acide 24,25-[3-(4-méthylpent-3-ényle)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-9 β H-lanosta-4(28),6,8(14)-triène-3,26-dioïque.

**1064****Figure 69** : Corrélations COSY (—) et HMBC (→) les plus importantes du composé **1064**

Le composé **1065** est lévogyre ($[\alpha]_D^{20} -117,7^\circ$, c 1,0, CHCl₃). Dans le spectre HRESIMS (p. 288), un ion pseudomoléculaire a été observé à m/z 633,4516 ($[M+H]^+$) permettant d'en déduire comme formule moléculaire C₄₁H₆₀O₅. La comparaison des spectres protons et carbones (p. 289) avec ceux du composé **1064**, a permis d'identifier un groupe méthyle additionnel avec des déplacements chimiques caractéristiques d'un méthoxyle lié à une des fonctions carbonyles. Le blindage de la position C-3 ($\Delta\delta_C = -6,5$ ppm, tableau 38) ainsi qu'une corrélation HMBC entre le méthoxyle et la position C-3 (figure 70) ont pu être observés ce qui a permis d'identifier le composé **1065** comme étant l'ester 3-méthyle de l'acide 24,25-[3-(4-méthylpent-3-ényl)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-9 β H-lanosta-4(28),6,8(14)-triène-3,26-dioïque. Il a été nommé abibalsamine H.

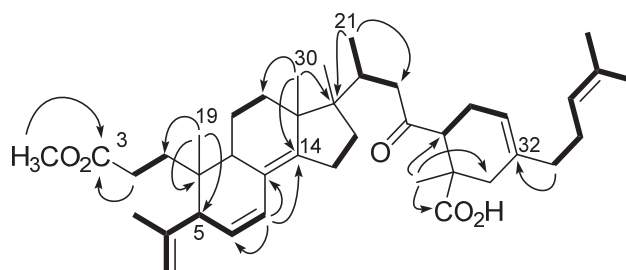
**1065****Figure 70** : Corrélations COSY (—) et HMBC (→) les plus importantes du composé **1065**

Tableau 38 : Données RMN ^{13}C (CDCl_3) des composés **1065-1068**

Position	δ_{C} (mult.)			
	1065	1066	1067	1068
1	28,61 (t)	30,34 (t)	28,65 (t)	28,48 (t)
2	29,77 (t)	29,31 (t)	29,90 (t)	29,87 (t)
3	174,94 (s)	180,23 (s)	180,69 (s)	180,95 (s)
4	145,87 (s)	149,51 (s)	145,81 (s)	145,79 (s)
5	50,56 (d)	43,94 (d)	50,55 (d)	50,54 (d)
6	126,70 (d)	30,97 (t)	126,61 (d)	126,63 (d)
7	125,25 (d)	122,13 (d)	125,30 (d)	125,27 (d)
8	125,13 (s)	143,84 (s)	125,00 (s)	125,02 (s)
9	39,57 (d)	49,17 (d)	39,44 (d)	39,49 (d)
10	37,11 (s)	36,82 (s)	37,07 (s)	37,08 (s)
11	19,79 (t)	22,71 (t)	19,73 (t)	19,76 (t)
12	32,37 (t)	31,17 (t)	32,20 (t)	32,28 (t)
13	47,43 (s)	63,51 (s)	47,42 (s)	47,42 (s)
14	146,58 (s)	161,49 (s)	146,75 (s)	146,70 (s)
15	23,86 (t)	28,02 (t)	23,89 (t)	23,86 (t)
16	35,92 (t)	36,18 (t)	35,90 (t)	35,90 (t)
17	48,75 (s)	50,31 (s)	48,87 (s)	48,79 (s)
18	16,21 (q)	18,05 (q)	16,12 (q)	16,16 (q)
19	21,86 (q)	24,63 (q)	21,89 (q)	21,87 (q)
20	33,52 (d)	34,83 (d)	34,13 (d)	33,76 (d)
21	16,53 (q)	16,23 (q)	16,61 (q)	16,56 (q)
22	44,82 (t)	45,47 (t)	45,02 (t)	44,76 (t)
23	211,59 (s)	212,99 (s)	211,77 (s)	211,70 (s)
24	51,63 (d)	51,83 (d)	52,04 (d)	51,70 (d)
25	43,00 (s)	43,00 (s)	42,60 (s)	43,02 (s)
26	183,10 (s)	183,92 (s)	184,20 (s)	184,34 (s)
27	15,98 (q)	15,90 (q)	15,60 (q)	15,79 (q)
28	115,41 (t)	111,90 (t)	115,46 (t)	115,47 (t)
29	24,79 (q)	26,52 (q)	24,78 (q)	24,80 (q)
30	21,86 (q)	106,75 (t)	21,84 (q)	21,87 (q)
31	40,46 (t)	37,45 (t)	37,56 (t)	40,48 (t)
32	135,80 (s)	118,22 (d)	118,42 (d)	135,76 (s)
33	118,14 (d)	135,59 (s)	135,47 (s)	118,17 (d)
34	25,54 (t)	28,69 (t)	28,36 (t)	25,44 (t)
35	37,32 (t)	37,13 (t)	37,02 (t)	37,32 (t)
36	26,27 (t)	26,28 (t)	26,29 (t)	26,26 (t)
37	123,78 (d)	123,76 (d)	123,80 (d)	123,77 (d)
38	131,78 (s)	131,85 (s)	131,84 (s)	131,77 (s)
39	25,71 (q)	25,73 (q)	25,73 (q)	25,71 (q)
40	17,76 (q)	17,73 (q)	17,76 (q)	17,76 (q)
OMe	51,58 (q)			

Tableau 39 : Données RMN ^1H (CDCl_3) des composés **1065-1068**

Position	δ_{H} (mult., J en Hz)			
	1065	1066	1067	1068
1	1,59 (2H, m)	1,73 (m) 1,64 (m)	1,59 (2H, m)	1,58 (2H, m)
2	2,27 (2H, m)	2,31 (2H, m)	2,27 (2H, m)	2,28 (2H, m)
5	2,63 (d, 5,6)	2,07 (m)	2,62 (d, 5,5)	2,62 (d, 5,5)
6	5,36 (dd, 9,9, 5,3)	2,39 (m) 2,14 (m)	5,37 (m)	5,36 (dd, 9,9, 5,4)
7	6,21 (d, 10,0)	5,45 (br s)	6,22 (d, 9,9)	6,21 (d, 9,9)
9	2,40 (m)	2,10 (m)	2,41 (m)	2,40 (m)
11	1,59 (2H, m)	1,60 (m) 1,39 (m)	1,59 (2H, m)	1,61 (m) 1,56 (m)
12	1,64 (m) 1,54 (m)	1,78 (m)	1,63 (m) 1,57 (m)	1,63 (m) 1,54 (m)
15	2,38 (m) 2,29 (m)	2,45 (m) 2,34 (m)	2,38 (m) 2,31 (m)	2,37 (m) 2,30 (m)
16	1,72 (m) 1,48 (m)	1,53 (2H, m)	1,72 (m) 1,48 (m)	1,71 (m) 1,47 (m)
18	0,67 (3H, s)	0,89 (3H, s)	0,68 (3H, s)	0,67 (3H, s)
19	0,84 (3H, m)	0,92 (3H, s)	0,85 (3H, s)	0,85 (3H, m)
20	2,37 (m)	2,30 (m)	2,37 (m)	2,35 (m)
21	0,80 (3H, d, 6,0)	0,80 (3H, d, 5,1)	0,81 (3H, d, 6,2)	0,80 (3H, d, 6,1)
22	2,55 (m) 2,32 (m)	2,34 (m) 2,16 (m)	2,53 (d, 14,4) 2,29 (m)	2,52 (d, 14,7) 2,30 (m)
24	3,00 (dd, 11,9, 5,4)	2,98 (dd, 11,6, 5,0)	3,09 (dd, 12,0, 5,3)	3,01 (dd, 11,9, 5,5)
27	1,26 (3H, s)	1,25 (3H, s)	1,21 (3H, s)	1,23 (3H, s)
28	4,96 (br s) 4,75 (br s)	4,81 (2H, s)	4,96 (br s) 4,76 (br s)	4,96 (s) 4,76 (s)
29	1,78 (3H, s)	1,76 (3H, s)	1,78 (3H, s)	1,78 (3H, s)
30	1,00 (3H, s)	4,75 (s) 4,70 (s)	1,05 (3H, s)	1,02 (3H, s)
31	2,36 (m) 1,95 (m)	2,39 (m) 2,03 (m)	2,41 (m) 2,02 (m)	2,36 (m) 1,92 (m)
32		5,37 (br s)	5,38 (m)	
33	5,42 (br s)			5,42 (br s)
34	2,44 (m) 2,03 (m)	2,15 (m) 1,95 (m)	2,26 (m) 2,01 (m)	2,44 (m) 2,03 (m)
35	2,05 (m) 1,98 (m)	2,01 (2H, m)	2,11 (m) 2,05 (m)	1,99 (2H, m)
36	2,08 (2H, m)	2,08 (2H, m)	2,10 (2H, m)	2,07 (2H, m)
37	5,08 (t, 7,2)	5,07 (t, 6,9)	5,08 (t, 6,7)	5,07 (t, 6,9)
39	1,68 (3H, s)	1,68 (3H, s)	1,69 (3H, s)	1,68 (3H, s)
40	1,61 (3H, s)	1,60 (3H, s)	1,61 (3H, s)	1,60 (3H, s)
OMe	3,65 (3H, s)			

Le composé **1066** est lévogyre ($[\alpha]_{\text{D}}^{20} -27,8^\circ$, c 0,2, CHCl_3). Sur le spectre HRESIMS a été observé un ion pseudomoléculaire à m/z 619,4349 correspondant à une formule moléculaire de $\text{C}_{40}\text{H}_{58}\text{O}_5$. Une forte bande IR à 1707 cm^{-1} a été observée sur le spectre (p. 290) et assignée à une

fonction carbonyle. La comparaison des spectres RMN ^1H et ^{13}C de **1066** avec ceux du composé **855** montre que ces molécules sont semblables (figures 71-72). Qui plus est, l'analyse détaillée des spectres HSQC, COSY et HMBC n'a pas aidé à trouver une quelconque différence entre ces deux composés, même si de toute évidence, ceux-ci sont différents. En effet, de très légers écarts peuvent être observés entre les spectres RMN ^{13}C (figure 72), comme par exemple la cétone en C-23 se trouve à δ_{C} 211,5 pour le composé **855** (tableau 24, p. 181) alors qu'elle se trouve à δ_{C} 213,0 pour le composé **1066** (tableau 38). Les différences sont plus notables sur le spectre RMN ^1H (figure 71). Il faut aussi noter que ces composés ont été séparés par HPLC à partir d'une même fraction, ce qui montre bien que ces deux composés sont différents. Afin d'expliquer ces observations, la structure du composé **1066** doit donc être désignée comme étant un diastéréoisomère du composé **855** (figure 73). De la même manière, les composés **1067** et **1068**, tous les deux lévogyres ($[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ $-157,9$ et $-164,1$, respectivement, c 0,6, CHCl_3), doivent être assignés comme étant des diastéréoisomères des composés **1063** et **1064**, respectivement.

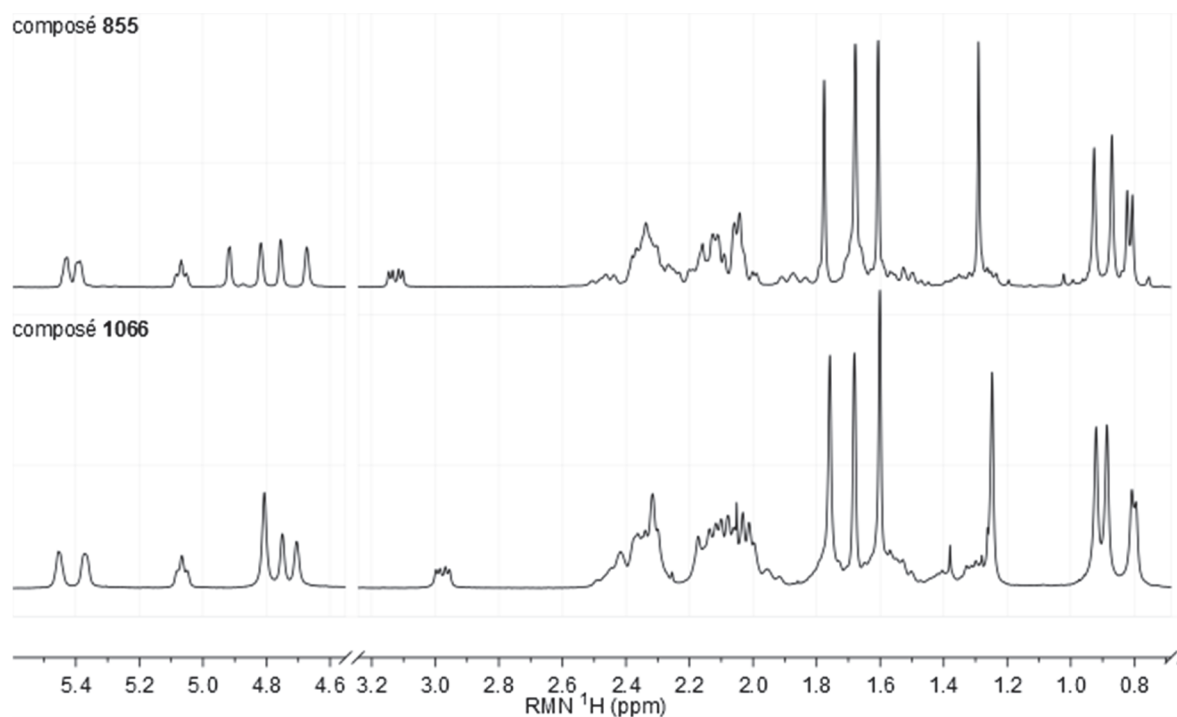


Figure 71 : Comparaison des spectres RMN ^1H des molécules **855** et **1066**

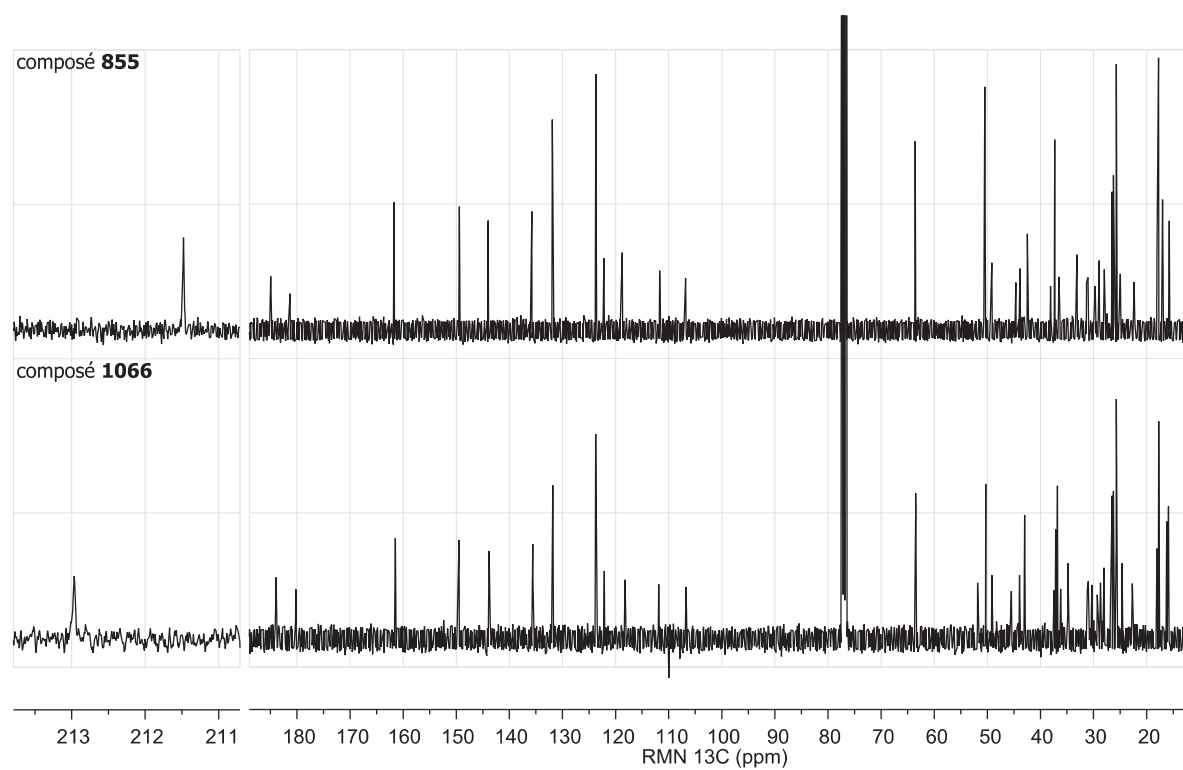


Figure 72 : Comparaison des spectres RMN ^{13}C des molécules **855** et **1066**

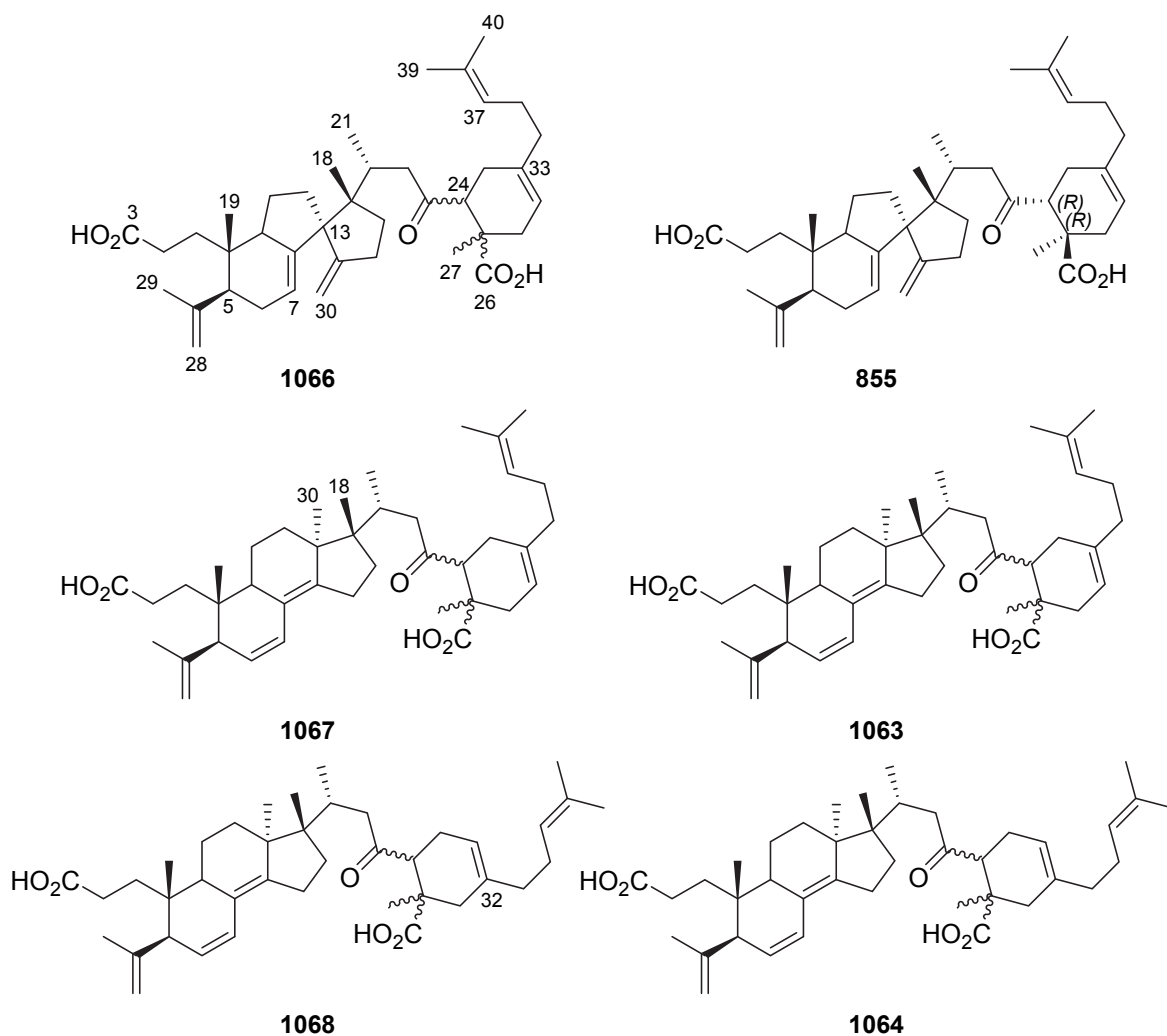


Figure 73 : Structures des composés **1066-1068**, comparées à leur diastéréoisomère respectif

4.2. Stéréochimie des composés isolés

L'isolement de diastéréoisomères confirme davantage l'hypothèse selon laquelle les tétraterpènes **855-856** et **1061-1068** ont été biosynthétisés via une réaction de Diels-Alder (figure 62, p. 183). En effet, il est bien connu que cette réaction donne lieu à une série d'isomères en fonction de la stéréochimie du diénophile, ainsi que de l'orientation relative des deux réactifs (ortho/para, diène au-dessus/en-dessous du diénophile ou endo/exo) [362]. Dans le cas présent, trois triterpènes, soit les composés **825**, **831** et **838**, auraient réagi pour former les composés **1061-1068** (figure 74). Cela implique, que les stéréocentres C-5, C-9, C-10, C-13, C-14, C-17 et C-21 présentent les mêmes configurations pour les tétraterpènes isolés que pour leur analogue triterpénique. D'ailleurs, cela s'est

avéré exact lors de la caractérisation du composé **855** par l'étude cristallographique des rayons X (figure 61, p. 179). Il faut aussi considérer que l'orientation endo/exo donne lieu aux mêmes stéréoisomères dans le cas présent et ne sera donc plus considérée.

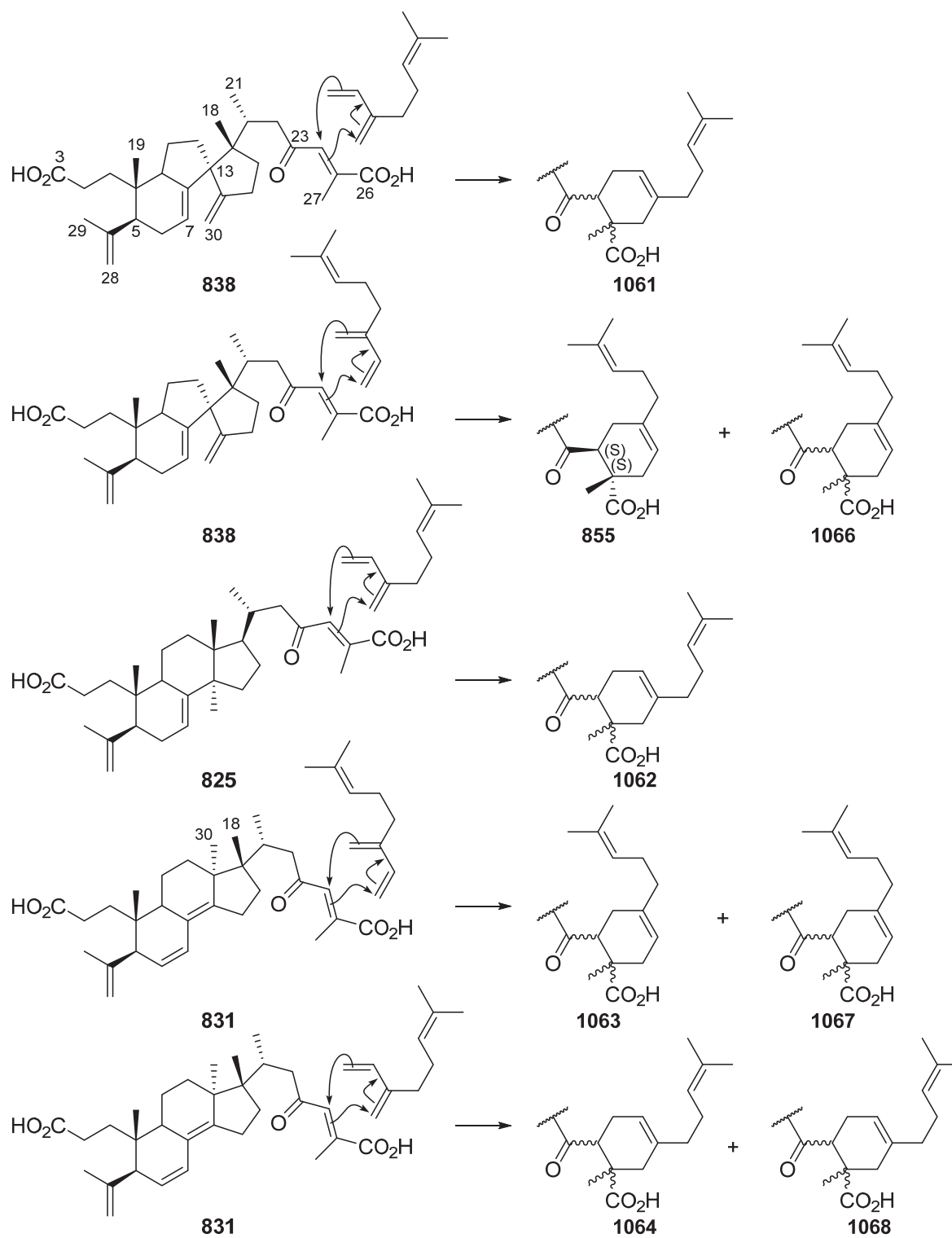


Figure 74 : Biosynthèse des composés **855** et **1061-1068**, à partir des triterpènes **825**, **831** et **838**

Bien que dans le sapin baumier, les composés **825**, **831** et **838**, tous de géométrie *24E*, aient été isolés (figure 63, p. 192), la présence de leur analogue de géométrie *24Z* ne peut être exclue. En effet, deux de ces molécules, les composés **830** et **837**, ont été isolées à partir du sapin de Sibérie [224, 227]. À partir de ce constat, les stéréoisomères possibles pour les composés **856** et **1061-1068** sont :

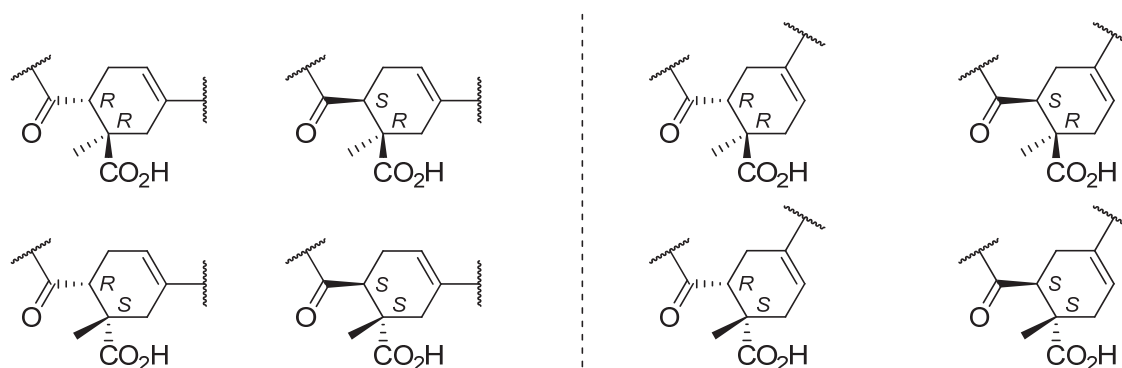


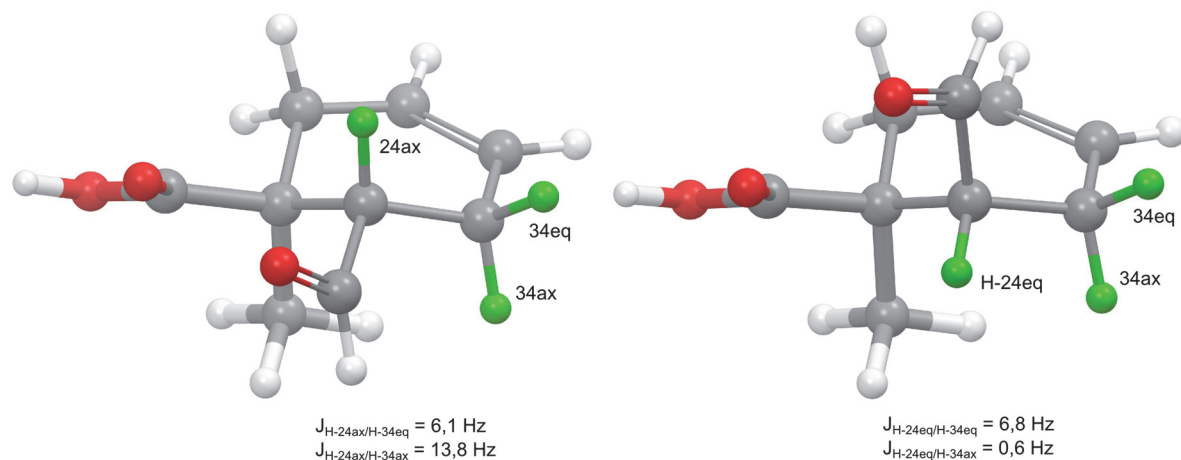
Figure 75 : Stéréochimies possibles pour les composés **856**, **1061**, **1062**, **1064**, **1065** et **1068** (à gauche), et **1063**, **1066** et **1067** (à droite)

Il est vrai que le composé **856** a été considéré comme étant l'ester 3-méthylque de l'abibalsamine A (**855**). Mais peut-être que cette conclusion fut trop hâtive puisque qu'il pourrait très bien être l'ester du composé **1066**, un diastéréoisomère. De la même manière, le composé **1065** peut être l'ester 3-méthylque des composés **1064** ou **1068**.

La première étape pour caractériser de manière précise la stéréochimie de tous ces composés consiste à regarder attentivement les données RMN ^1H et ^{13}C de deux positions clefs, soient 24 et 27 (tableau 40). On constate d'abord que le signal H-24 est situé à un déplacement chimique moyen de $3,02 \pm 0,06$ ppm. Les constantes de couplages du doublet dédoublé sont elles aussi très proches, soit $12,0 \pm 0,2$ Hz et $5,3 \pm 0,1$ Hz. Ce couplage s'explique par la présence des hydrogènes du méthylène H₂-34, avec lesquels le proton H-24 couple. Il faut savoir qu'un cycle de type cyclohexène adopte comme conformère le plus stable une demi-chaise, de symétrie C_2 [363]. En connaissant les angles de torsion entre les hydrogènes impliqués, les constantes de couplage peuvent être prédites, grâce à l'équation modifiée de Karplus [364], selon que H-24 soit en position équatoriale ou axiale (figure 76). D'après ces calculs, il apparaît évident que H-24 est en position axiale pour tous les tétraterpènes isolés.

Tableau 40 : Déplacements chimiques ^1H et ^{13}C des positions 24 et 27 pour les composés **855-856** et **1061-1068**

Composé	Relation	δ en ppm (mult., $^3J_{\text{HH}}$ en Hz)			
		H-24	C-24	H ₃ -27	C-27
855	-	3.12 (dd, 12.4, 5.2)	50.4	1.29 (s)	15.7
856	Me ester de 855	3.08 (dd, 11.8, 5.4)	50.4	1.25 (s)	16.1
1061	Régio de 855	2.92 (dd, 11.8, 5.3)	51.5	1.26 (s)	16.2
1062	-	3.02 (dd, 11.9, 5.4)	50.3	1.25 (s)	15.8
1063	-	3.03 (dd, 12.3, 5.2)	50.7	1.29 (s)	15.8
1064	Régio de 1063	2.99 (dd, 12.1, 5.4)	50.5	1.28 (s)	15.9
1065	Me ester de 1064	3.00 (dd, 11.9, 5.4)	51.6	1.26 (s)	16.0
1066	Diastéréo de 855	2.98 (dd, 11.6, 5.0)	51.8	1.25 (s)	15.9
1067	Diastéréo de 1063	3.09 (dd, 12.0, 5.3)	52.0	1.21 (s)	15.6
1068	Diastéréo de 1064	3.01 (dd, 11.9, 5.5)	51.7	1.24 (s)	15.8
Moyenne	-	3.02 (dd, 12.0, 5.3)	51.1	1.30 (s)	15.9

**Figure 76** : Constantes de couplage calculées pour un H-24 axial (à gauche) ou équatorial (à droite)

La position de H-24 étant établie, reste donc à déterminer celle de Me-27. Normalement, des corrélations NOESY ou ROESY devraient permettre de trancher rapidement. Malheureusement, le chevauchement important des différents signaux RMN ^1H empêche de conclure sans équivoque. Les déplacements chimiques moyens pour cette position sont de $1,30 \pm 0,02$ ppm pour l'hydrogène et de

15,9 ± 0,2 ppm pour le carbone (tableau 40). Dans la littérature, il existe plusieurs exemples comparables qui permettent d'assigner le Me-27 en position axiale (figure 77).

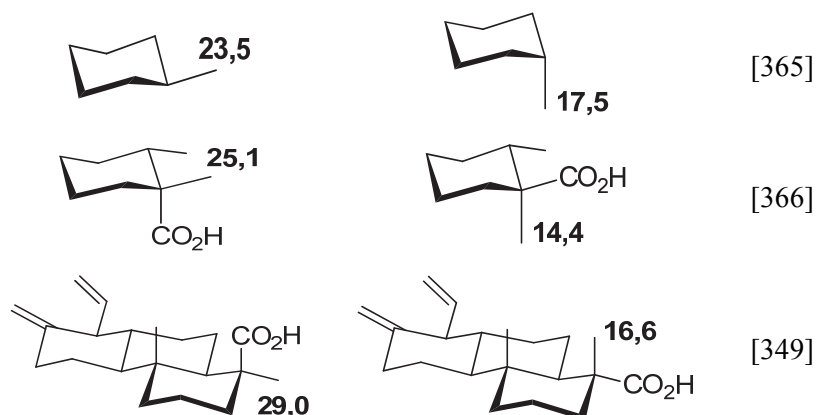


Figure 77 : Déplacements chimiques ^{13}C de méthyles en position axiale ou équatoriale

Il est maintenant établi que H-24 et Me-27 sont tous les deux en position axiales, et donc, que la configuration des triterpènes à l'origine de ces tétraterpènes était tous de géométrie 24*E*. Cela est cohérent avec ce qui a été discuté précédemment (voir p. 255). Le nombre de diastéréoisomères possibles est donc réduit de moitié (figure 75). En effet, les isomères pour lesquels la configuration en C-24 et C-25 est de *R,S* ou *S,R* ne sont pas possibles. Étant donné que le composé **855** a été complètement caractérisé grâce à la cristallographie par rayon X, le diastéréoisomère correspondant (**1066**) peut donc lui aussi être déterminé comme étant l'acide (5*S*,9*S*,10*S*,13*R*,17*S*,24*R*,25*R*)-24,25-[2-(4-méthylpent-3-ényl)but-2-ène-1,4-diyl]-23-oxo-3,4-séco-17,13-friedo-8(14→13)*abéo*-9βH-lanosta-4(28),7,14(30)-triène-3,26-dioïque (figure 78).

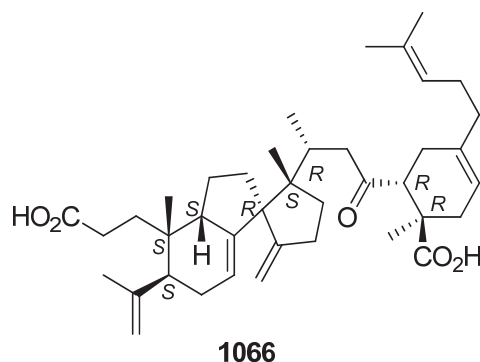


Figure 78 : Structure finale de l'abibalsamine D (**1066**)

Pour les autres composés, de la modélisation moléculaire devra être réalisée.

4.3. Modélisation

L'objectif de la modélisation est double : expliquer les faibles différences observées sur les spectres ECD et ROESY. Afin d'aborder la modélisation des composés isolés de manière adéquate, il convient de bien orienter la stratégie. Notons d'abord qu'avec chaque triterpène, il est possible de former quatre isomères : deux régioisomères, dus à l'orientation ortho/para du précurseur β -myrcène (**299**), et pour chacun d'eux, deux diastéréoisomères, dus à l'attaque du diène par-dessus ou par-dessous le diénophile (figure 74). Cependant, tous ces isomères n'ont pas été isolés. Ainsi, trois isomères (**1061**, **855/1066**) ont été isolés pour le précurseur **838**, un seul (**1062**) pour le précurseur **825** et quatre (**1063/1067** et **1064/1068**) pour le précurseur **831**. Étant donné que pour ce dernier précurseur, tous les régio-/stéréoisomères possibles ont été isolés, la modélisation a été débutée avec ces molécules.

Pour éviter toute confusion, les modèles n'ont pas été numérotés comme les autres molécules. Ceux-ci ont donc été nommés selon les indications données dans le tableau ci-dessous.

Tableau 41 : Nomenclature des modèles

Nom	Précurseur	Chaîne isohexényle	Config. C-24	Config. C-25
A	831	33	<i>S</i>	<i>S</i>
B	831	33	<i>R</i>	<i>R</i>
C	831	32	<i>S</i>	<i>S</i>
D	831	32	<i>R</i>	<i>R</i>
E	838	32	<i>S</i>	<i>S</i>
F	838	32	<i>R</i>	<i>R</i>
G	825	32	<i>S</i>	<i>S</i>
H	825	32	<i>R</i>	<i>R</i>

4.3.1 Modélisation des molécules **1063/1067** et **1064/1065/1068**

Tout d'abord, chacune des quatre molécules a été recréée avec le logiciel Spartan [359]. Ce dernier a été sollicité afin de construire tous les conformères possibles pour chaque modèle. Pour ce faire, le logiciel effectue des rotations de liens puis optimise la géométrie du nouveau conformère obtenu en utilisant l'algorithme de mécanique moléculaire MMFF94 [367]. Cette opération est répétée un grand nombre de fois afin de couvrir au maximum l'espace conformationnel. À la fin du processus,

le logiciel classe les conformères par ordre croissant d'énergie interne. Pour chaque molécule, un très grand nombre de conformère a été généré, mais seulement une partie d'entre eux a été choisie pour l'étape suivante. Cependant, les dix premiers conformères pour les modèles A-D sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 42 : Énergie interne des 10 conformères les plus stables de chaque modèle

# conf.	E (kJ mol ⁻¹)			
	A	B	C	D
1	282,45	285,67	254,49	289,71
2	282,48	285,80	255,02	289,80
3	283,55	286,10	256,06	290,03
4	284,01	286,31	256,10	290,13
5	284,33	286,31	256,41	290,18
6	284,55	286,53	256,43	290,28
7	284,86	286,58	256,52	290,33
8	285,15	286,75	256,57	290,35
9	285,16	287,02	256,57	290,45
10	285,43	287,03	256,73	290,52
Nbr conf. ^a	9 435	14 444	14 373	17 211

^a Nombre de conformères uniques trouvés.

Par la suite, les 100-200 premiers conformères, c'est-à-dire ceux qui avaient une différence d'énergie interne par rapport au conformère le plus stable d'au plus 4,18 kJ mol⁻¹, ont été soumis au logiciel Gaussian pour optimiser leur géométrie [360] par la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT, méthode *ab initio*). Pour cette opération, le jeu d'orbitales 3-21g [368] ainsi que la fonctionnelle B3LYP ont été utilisés. Ce jeu d'orbitales n'est pas le choix permettant la plus grande précision, mais étant donné la très grande taille des molécules, ces orbitales ont été sélectionnées afin d'éviter des temps de calcul démesurés. Au terme de l'optimisation, le calcul des paramètres thermodynamiques est effectué automatiquement par le logiciel afin d'identifier les conformères les plus stables. Au cours de cette étape, plusieurs conformères, créés et optimisés par mécanique moléculaire au cours de l'étape précédente, convergent vers une même structure. Afin de les identifier rapidement, un script a été développé sur Matlab. Celui-ci est détaillé dans les informations supplémentaires (section 0, p. 296). Le tableau ci-après détaille les différents conformères obtenus pour les modèle A-D.

Tableau 43 : Énergie (ΔG)^a et abondance des conformères optimisés par Gaussian (3-21g/B3LYP)

ID	A		B		C		D	
	ΔG	%	ΔG	%	ΔG	%	ΔG	%
i	0,00	35,1	0,00	20,1	0,00	75,1	0,00	14,5
ii	0,21	28,0	0,10	18,2	1,46	16,1	0,43	9,2
iii	1,14	10,5	0,53	11,5	2,82	3,8	0,79	6,3
iv	1,36	8,3	0,86	8,1	3,64	1,6	0,81	6,2
v	1,94	4,5	1,18	5,7	4,29	0,8	1,13	4,4
vi	2,38	2,8	1,22	5,5	4,34	0,8	1,15	4,3
vii	2,77	1,9	1,29	5,1	4,72	0,5	1,22	4,0
viii	3,05	1,4	1,48	4,2	5,05	0,4	1,37	3,4
ix	3,11	1,3	1,53	4,0	5,19	0,3	1,38	3,4
x	3,56	0,8	1,63	3,6	5,26	0,3	1,52	2,9
xi	3,57	0,8	1,96	2,5	5,78	0,2	1,55	2,8
xii	3,82	0,6	2,31	1,7	6,37	0,1	1,69	2,4
xiii	3,84	0,6	2,85	1,0	7,14	0,0	1,71	2,4
xiv	3,85	0,6	2,93	0,9	7,17	0,0	1,87	2,0
xv	4,15	0,4	3,20	0,7	7,25	0,0	1,88	2,0
xvi	4,58	0,3	3,20	0,7	7,47	0,0	1,89	2,0
xvii	4,61	0,3	3,24	0,6	7,54	0,0	1,93	1,9
xviii	4,61	0,3	3,34	0,6	7,76	0,0	2,06	1,6
xix	4,63	0,3	3,35	0,6	9,17	0,0	2,11	1,6
xx	4,74	0,2	3,43	0,5			2,12	1,5
xxi	4,86	0,2	3,55	0,5			2,14	1,5
xxii	4,87	0,2	3,61	0,4			2,24	1,4
xxiii	5,13	0,2	3,64	0,4			2,26	1,3
xxiv	5,49	0,1	3,81	0,4			2,26	1,3
xxv	5,63	0,1	3,89	0,3			2,29	1,3
xxvi	5,66	0,1	4,02	0,3			2,45	1,1
xxvii	6,14	0,1	4,03	0,3			2,45	1,1
xxviii	6,15	0,1	4,16	0,2			2,48	1,0
xxix	6,31	0,0	4,22	0,2			2,51	1,0
xxx	6,72	0,0	4,31	0,2			2,52	1,0
xxxi	9,59	0,0	4,52	0,2			2,52	1,0
xxxii	9,92	0,0	4,67	0,1			2,55	1,0
xxxiii			4,84	0,1			2,58	0,9
xxxiv			4,97	0,1			2,76	0,8
xxxv			5,11	0,1			2,93	0,6
xxxvi			5,51	0,1			3,06	0,6
xxxvii			5,54	0,1			3,06	0,6
xxxviii			5,67	0,0			3,12	0,5
xxxix			6,19	0,0			3,22	0,5
xl			6,72	0,0			3,34	0,4
xli							3,37	0,4
xlii							3,40	0,4

ID	A		B		C		D	
	ΔG	%	ΔG	%	ΔG	%	ΔG	%
xliii							3,44	0,4
xliv							3,62	0,3
xlvi							3,66	0,3
xlvi							4,02	0,2
xlvi							4,16	0,2
xlvi							4,27	0,2
xlvi							4,46	0,1
l							8,73	0,0

^a Énergie en Hartree $\times 10^{-3}$. L'énergie libre de Gibbs en Hartree des conformères les plus stables est : A = -1923,89707 ; B = -1923,89592 ; C = -1923,91307 ; D = -1923,89608.

Les résultats obtenus pour chaque modèle diffèrent sur plusieurs points. D'abord, on trouve un bien plus grand nombre de conformères uniques pour les modèles A, B et D (32, 40 et 50 conformères, respectivement) que pour le modèle C (19 conformères). Cela suggère une plus grande flexibilité de leur chaîne latérale. Ensuite, afin d'être en mesure de représenter au moins 90 % de toutes les molécules, il faut plusieurs conformères. Ainsi, pour les modèles A, B, C et D, il faut respectivement 7, 12, 2 et 30 conformères. Afin de bien comprendre les différences, il convient de visualiser de manière précise ces conformères. La figure 79 représente les deux conformères les plus stables pour chaque modèle.

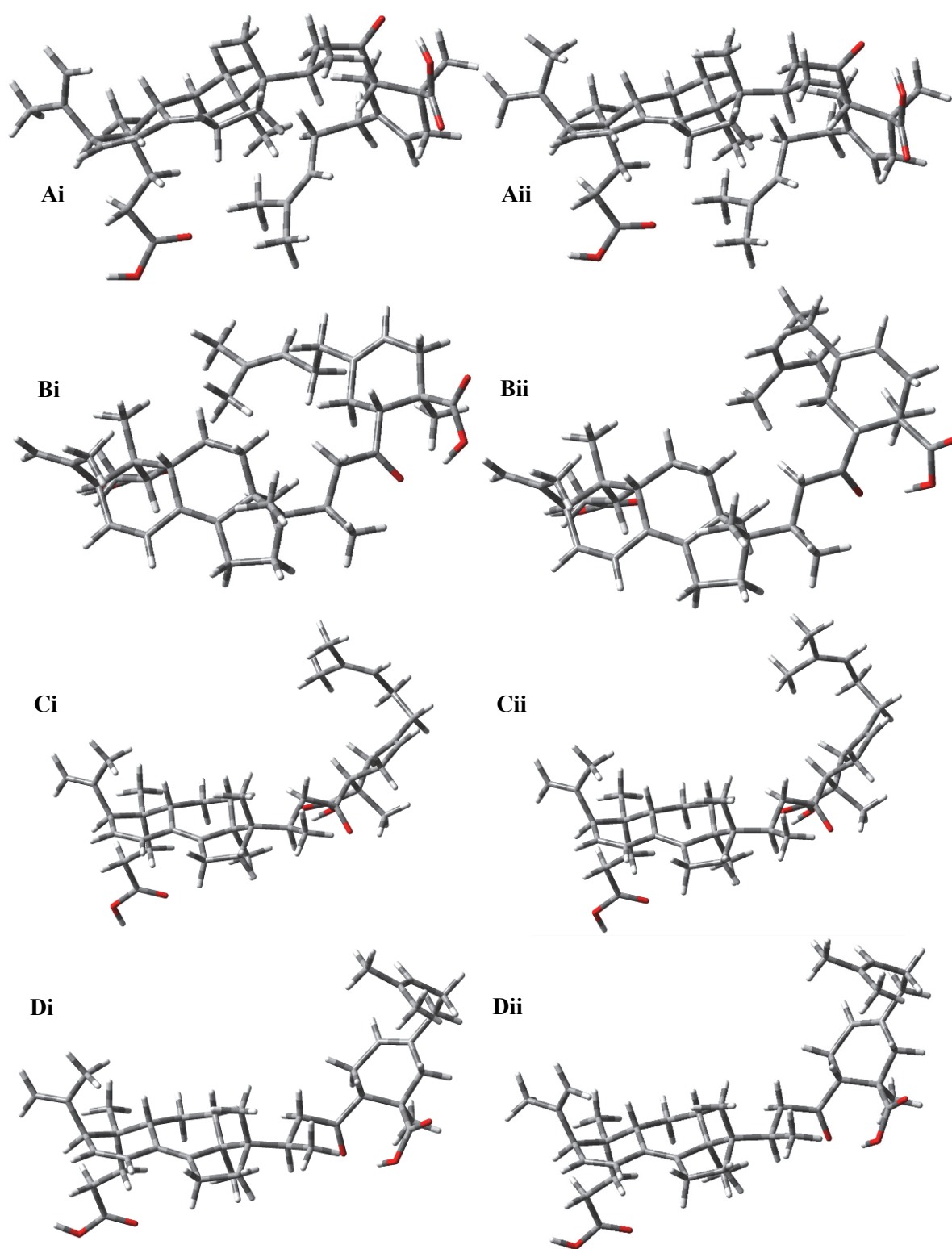


Figure 79 : Structure des conformères les plus stables pour chaque modèle

On peut remarquer dans cette figure que la structure varie très peu d'un conformère à l'autre. Lorsque plus de conformères sont observés, on remarque que les plus grosses variations résident dans la position de la chaîne acide propanoïque en C-10 et la chaîne isohexényle en C-32/33.

La dernière étape de la modélisation consiste à calculer les transitions électroniques ainsi que les coefficients de rotation, nécessaires pour obtenir un spectre ECD théorique. Pour ce faire, les conformères les plus stables, en gras dans le tableau 43, ont été soumis à Gaussian, en utilisant la théorie de la fonctionnelle de la densité dépendante du temps (TDDFT), le jeu d'orbitales 3-21g et la fonctionnelle B3LYP. Cette méthode permet de calculer l'énergie des transitions électroniques (ΔE_i) observables et, pour chacune d'elles, le coefficient de rotation (R_i). Étant donnée la taille importante de la molécule, seulement 40 transitions ont été calculées. Avec ces valeurs, on peut calculer un spectre ECD pour chacun des conformères en utilisant l'équation suivante :

$$\Delta\epsilon(E) = \frac{\sum_i \Delta E_i R_i e^{-[(E-\Delta E_i)/2\sigma]^2}}{2,297 \times 10^{-39} \sqrt{2\pi\sigma}}$$

Dans cette équation, ΔE_i et R_i sont calculés par Gaussian, tandis que σ est un paramètre pour prévoir l'élargissement caractéristique des bandes de transitions électroniques. Sa valeur a été fixée à 0,2 eV. La variable indépendante, E , est la longueur d'onde et doit être convertie en eV avant d'être introduite dans l'équation puisque l'énergie des transitions calculées par Gaussian est elle aussi en eV. Les spectres théoriques sont finalement obtenus (figure 80) en calculant la moyenne des spectres de chaque conformère, pondérée par leur abondance (tableau 43). Pour comparer, les spectres expérimentaux sont aussi présentés à la figure 81. Pour l'instant, les modèles A-D n'ont pas encore été associés aux molécules **1063-1068**. Il ne faut donc pas comparer les courbes de mêmes couleurs.

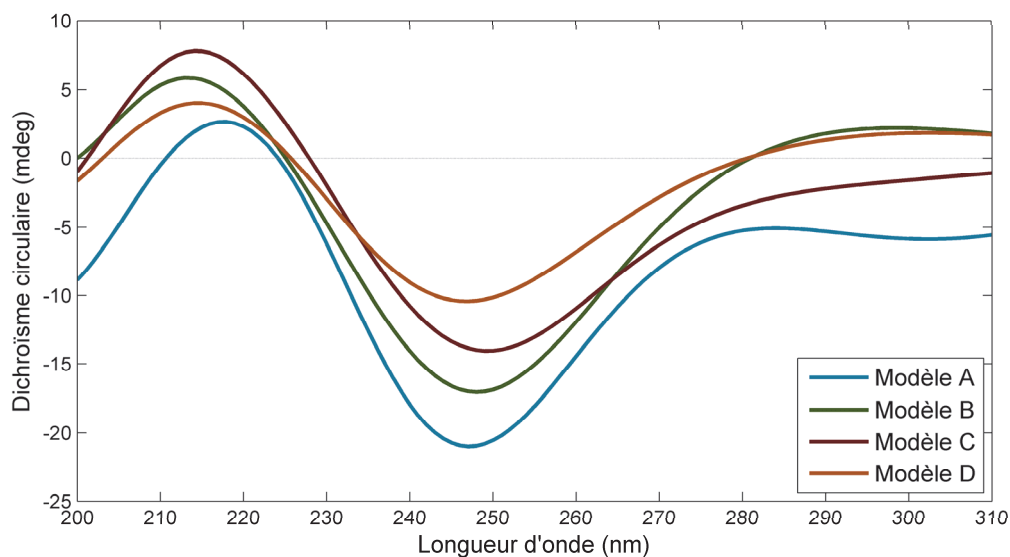


Figure 80 : Spectre ECD calculés pour les modèles A-D

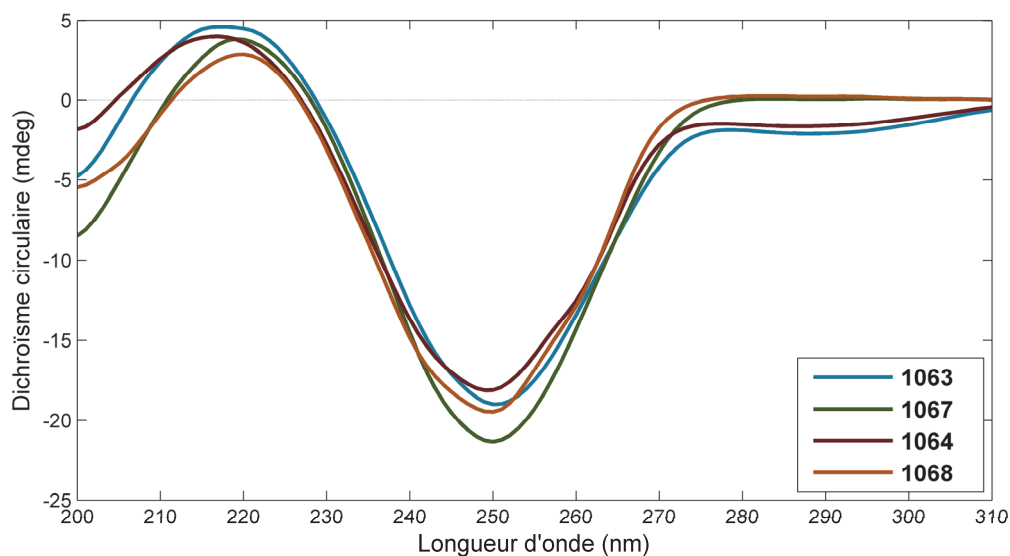


Figure 81 : Spectres ECD expérimentaux (en bas) pour les molécules **1063-1068**

Comme premier constat, il faut mentionner la forte similitude des spectres théoriques avec les spectres expérimentaux. Cela confère une certaine validité au modèle développé. Par contre, une différence peut être notée entre les molécules **1063/1067** et **1064/1068** vers 290 nm. En effet, un minimum y est observé et pourrait être attribué à la position de la chaîne isohexényle, la seule différence entre ces molécules. Malheureusement, cela n'est pas observable sur les spectres des

modèles théoriques. En dernier lieu, il faut surtout remarquer qu'il n'y a pas de différence significative entre les diastéréoisomères, ni dans les courbes expérimentales, ni dans les courbes théoriques. **Il faut donc conclure que la spectroscopie de dichroïsme circulaire n'est pas adaptée pour différencier ces composés.**

Le modèle développé n'est cependant pas à rejeter. En effet, il sera mis à profit dans l'interprétation des spectres ROESY obtenus.

4.3.2 Interprétation des spectres ROESY des molécules **1063/1067** et **1064/1065/1068**

Les spectres NOESY et ROESY des composés **1063**, **1064**, **1065**, **1067** et **1068** ont été enregistrés. Cependant, étant donnée la piètre qualité des spectres NOESY, ce sont les spectres ROESY qui seront utilisés pour la suite (figures 82 et 83). Seules les sections pertinentes des spectres sont présentées, soit les corrélations entre le proton 24 et les méthyles 21 et 27. Sur chacune des figures sont aussi représentées les conformères les plus stables de chaque modèle. Il faut noter que les conformères moins stables, non montrés, présentent tous une disposition similaire aux positions diagnostiquées.

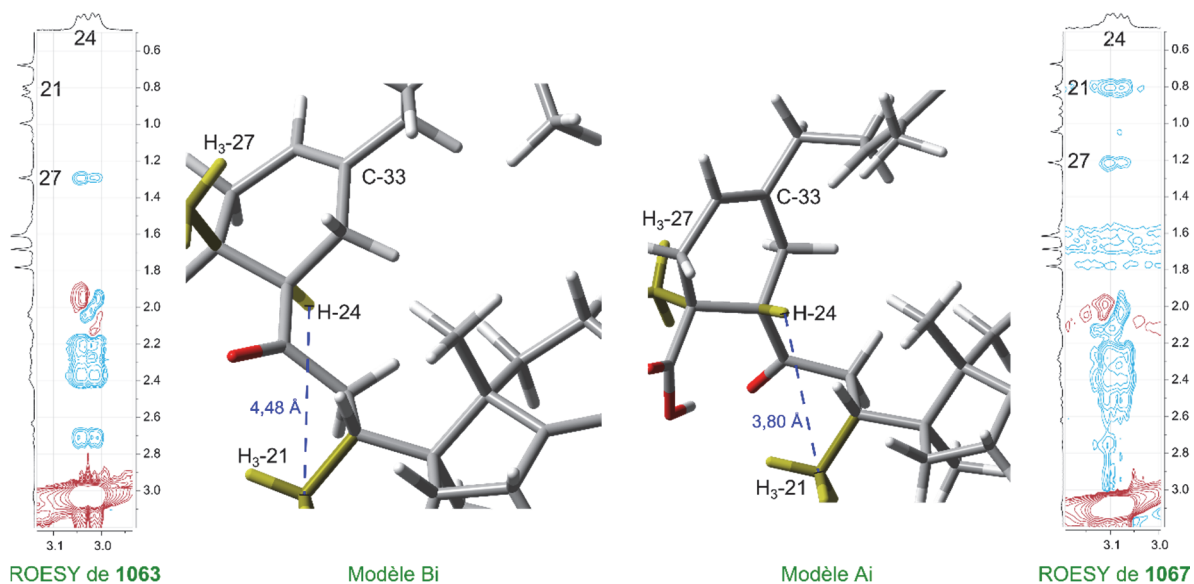


Figure 82 : Spectres ROESY des composés **1063** et **1067**

Les distances affichées sont calculées en tenant compte de tous les conformères (voir section 3.5)

Les spectres ROESY ont été mis à l'échelle de sorte que les corrélations de référence H-24/H₃-27 aient la même intensité. En effet, leur configuration axiale suppose une distance constante d'un modèle à l'autre. Sur le spectre de la molécule **1067**, une corrélation entre le proton 24 et le méthyle 21, plus intense que la corrélation de référence, peut être observée. Cette corrélation est présente aussi sur le spectre de la molécule **1063**, mais avec une intensité beaucoup plus faible (invisible sur la figure 82). Cela indique que le proton 24 est plus près du méthyle 21 pour la molécule **1067** que pour la molécule **1063**. Sur les modèles A et B, la distance moyenne pondérée, mesurée entre les positions H-24 et H₃-21, est respectivement de 3,80 Å et 4,48 Å. Sur cette base, le composé **1063** est associé au modèle B tandis que le composé **1067** est associé au modèle A. Ainsi, la stéréochimie proposée pour les composés **1063** et **1067** est 24*R*,25*R* et 24*S*,25*S*, respectivement.

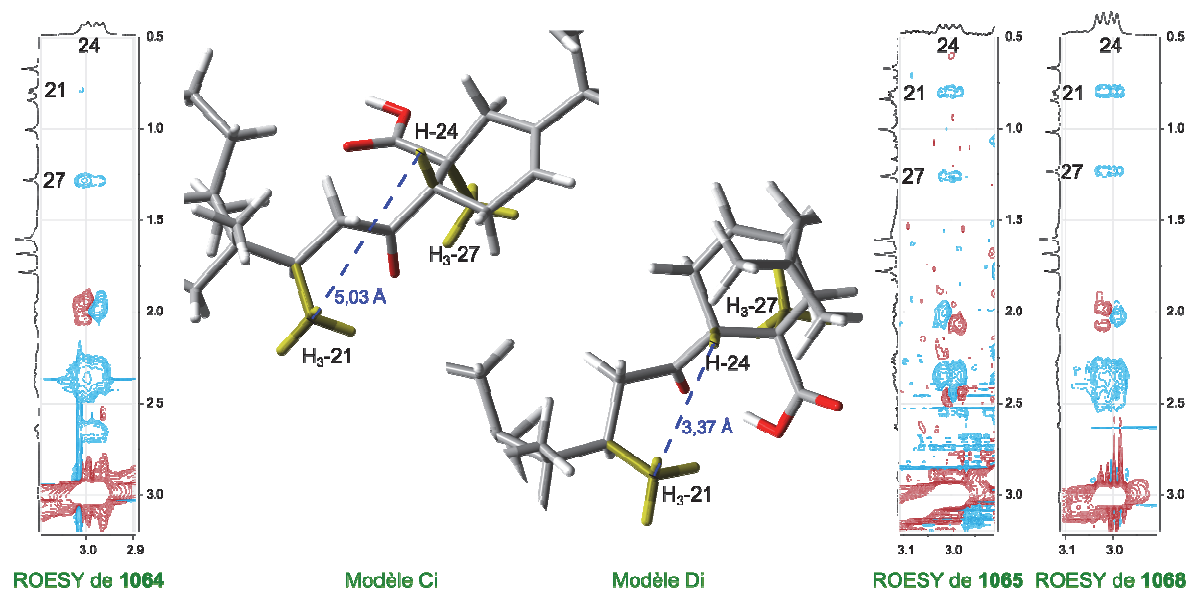


Figure 83 : Spectres ROESY des composés **1064**, **1065** et **1068**

Les distances affichées sont calculées en tenant compte de tous les conformères (voir section 3.5).

De la même manière, les spectres ROESY des molécules **1064**, **1065** et **1068** ont été mis à l'échelle (figure 83). La corrélation H-24/H₃-21 est visible sur les spectres des composés **1065** et **1068**, mais pas sur celui du composé **1064**. La distance mesurée sur les modèles C et D est de 5,03 Å et 3,37 Å, respectivement. On peut supposer que le méthyle en position 3 de la molécule **1065** n'influence pas significativement la disposition des atomes de la chaîne latérale. Le composé **1064** est donc associé au modèle C (24*S*,25*S*) tandis que les composés **1065** et **1068** sont associés au D (24*R*,25*R*).

4.3.3 Modélisation des molécules **1061** et **1062** et spectres ROESY

Les modèles E et F ont été développés pour simuler la structure du composé **1061**, tandis que les modèles G et H simulent la structure du composé **1062** (tableau 41). Les modèles ont été mis au point de la même manière que pour les modèles A-D. Ainsi, les énergies internes de chaque conformère, calculées par mécanique moléculaire, sont présentées au tableau 44. Il semble que ces composés contiennent plus d'énergie interne que les molécules A-D.

Tableau 44 : Énergie interne des 10 conformères les plus stables de chaque modèle

# conf.	E (kJ mol ⁻¹)			
	E	F	G	H
1	361,37	366,42	400,41	396,77
2	361,49	367,29	400,67	396,82
3	361,56	367,93	401,30	396,95
4	362,24	368,11	401,45	397,34
5	362,24	368,92	401,61	397,37
6	362,24	370,64	401,74	397,40
7	362,34	370,71	402,10	397,93
8	362,36	370,76	402,12	398,00
9	362,39	370,81	402,18	398,29
10	362,59	371,10	402,19	398,31
Nbr conf. ^a	38 869	31 257	18 167	14 766

^a Nombre de conformères uniques trouvés.

Encore une fois, les 100 conformères les plus stables ont été soumis à une optimisation géométrique (3-21g/ B3LYP) ainsi qu'au calcul des paramètres thermodynamiques. Les résultats sont présentés au tableau 45. Parmi ce groupe, 23-43 conformères uniques ont été obtenus.

Tableau 45 : Énergie (ΔG)^a et abondance des conformères optimisés par Gaussian (3-21g/B3LYP)

ID	E		F		G		H	
	ΔG		ΔG		ΔG		ΔG	
i	0,00	28,1	0,00	27,9	0,00	12,1	0,00	29,9
ii	0,76	12,6	0,82	11,8	0,18	10,0	0,64	15,2
iii	0,78	12,2	1,29	7,1	0,35	8,3	0,65	15,0
iv	1,01	9,7	1,45	6,0	0,54	6,8	1,13	9,1
v	1,35	6,7	1,56	5,4	0,58	6,5	1,41	6,7
vi	1,52	5,6	1,64	4,9	0,69	5,8	1,63	5,3
vii	1,54	5,5	1,69	4,7	0,70	5,8	1,83	4,3
viii	1,81	4,1	1,77	4,3	0,85	4,9	2,28	2,7
ix	1,90	3,8	1,86	3,9	0,86	4,9	2,47	2,2
x	2,10	3,0	2,09	3,1	0,94	4,5	2,51	2,1

Contrairement aux modèles A-D, les spectres ECD n'ont pas été mesurés puisque leur interprétation n'a pas été possible précédemment. Par contre, les modèles seront utilisés pour interpréter les spectres ROESY obtenus (figures 84 et 85).

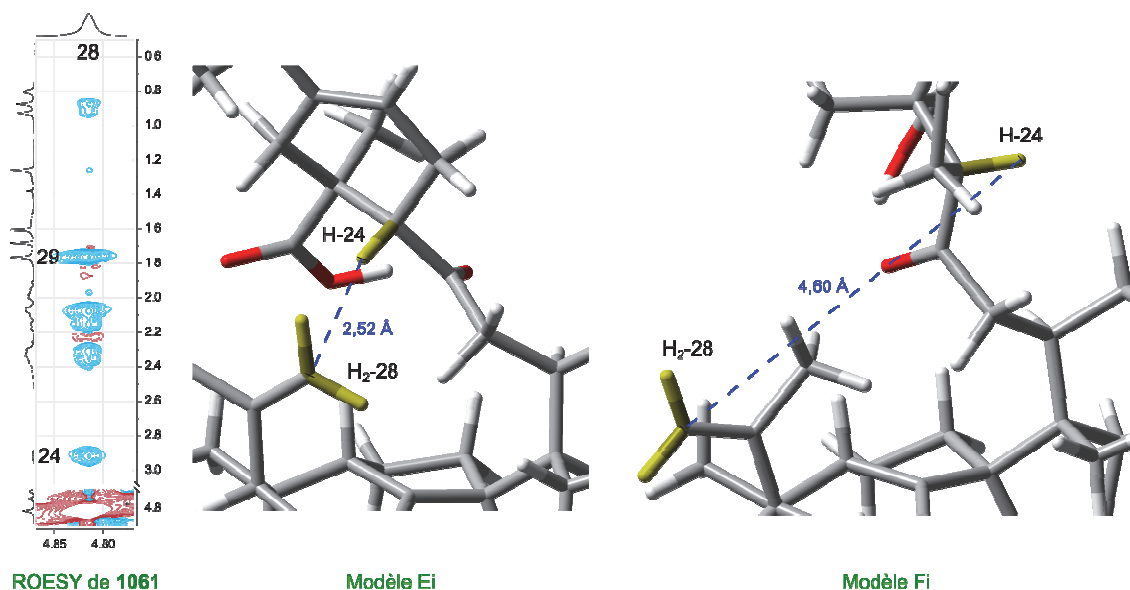


Figure 84 : Spectre ROESY du composé **1061**

Les distances affichées sont calculées en tenant compte de tous les conformères (voir section 3.5).

Le réarrangement du cycle D vers un cycle de type spiro pour le composé **1061**, tout comme pour les composés analogues (**855**, **856** et **1066**), implique que la chaîne latérale s'oriente au-dessus du squelette du cycle. Cette disposition, démontrée par une corrélation ROESY entre H-24 et H₂-28, ainsi que par une étude de cristallographie par rayon X (figure 61, p. 179), se confirme sur les modèles développés (figure 84). La corrélation ROESY H₂-28/H-24 est très intense sur le spectre du composé **1061**, presque autant que la corrélation H₂-28/H₃-29. Cela implique une forte proximité entre ces deux protons. La distance moyenne pondérée, calculée pour les modèles E et F, est respectivement de 2,52 Å et 4,60 Å. Même si la figure 84 semble montrer une distance bien plus grande pour le modèle F, il ne faut pas perdre de vue que la distance calculée tient compte de tous les conformères, et non seulement du conformère le plus intense, soit celui affiché sur la figure. En effet, le conformère Fi montre une distance de 8,12 Å, tandis que pour les autres conformères, cette distance oscille plutôt entre 3,23-4,94 Å. Malgré cela, 4,60 Å est une distance trop élevée pour expliquer la corrélation ROESY. Le composé **1061** peut donc être associé au modèle E, de stéréochimie 2*S*,25*S*.

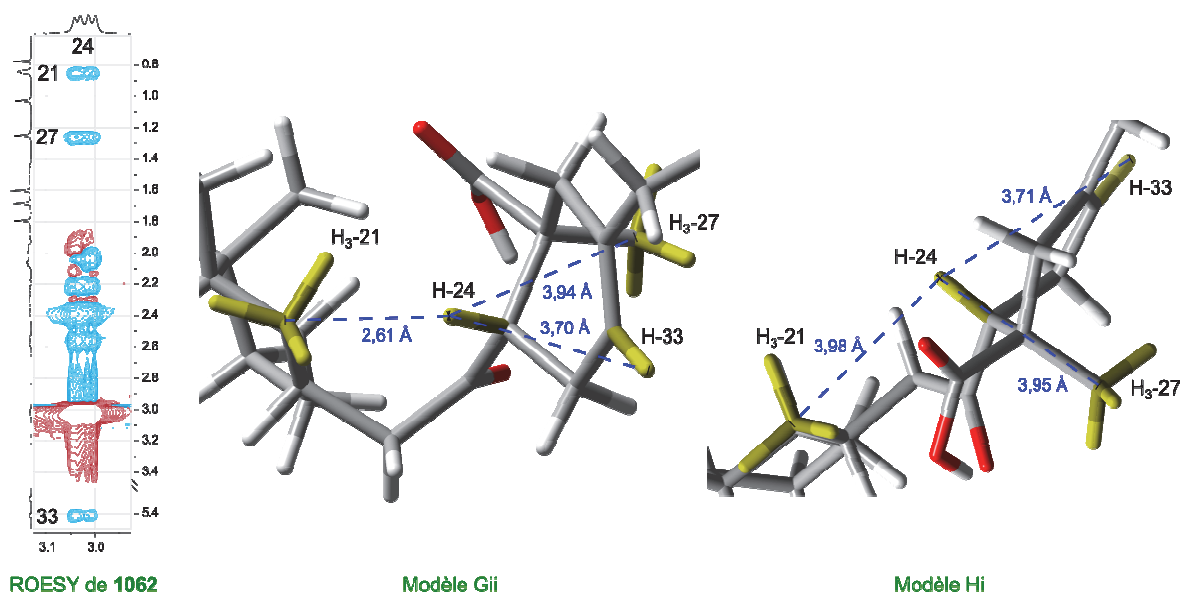


Figure 85 : Spectre ROESY du composé **1062**

Les distances affichées sont calculées en tenant compte de tous les conformères (voir section 3.5).

Le spectre ROESY du composé **1062** (figure 85) affiche trois corrélations importantes : H-24/H₃-21, H-24/H₃-27 et H-24/H-33. Ces corrélations ont pratiquement toutes la même intensité, ce qui signifie que les groupes qui leurs sont associés sont équidistants. Comme le cycle de la chaîne latérale a une géométrie fixe, les distances H-24/H₃-27 et H-24/H-33 ne varient pas significativement d'un modèle à l'autre (3,94 Å et 3,70 Å, respectivement). C'est donc la distance H-24/H₃-21 qui permet de trancher : 2,61 Å pour le modèle G et 3,98 Å pour le modèle H. Le composé **1062** peut donc être associé au modèle H, de stéréochimie 24*R*,25*R*.

4.3.4 Interprétation des spectres ROESY des composés **855**, **856** et **1066**

La stéréochimie du composé **856** avait été présumée identique à celle du composé **855** (voir chapitre 3, section 7, p. 177). Cependant, compte tenu de l'existence du diastéréoisomère **1066**, la molécule **856** pourrait tout aussi bien être l'ester méthylique de ce dernier. Pour vérifier cette hypothèse, les spectres ROESY de ces trois composés sont reproduits à la figure 86.

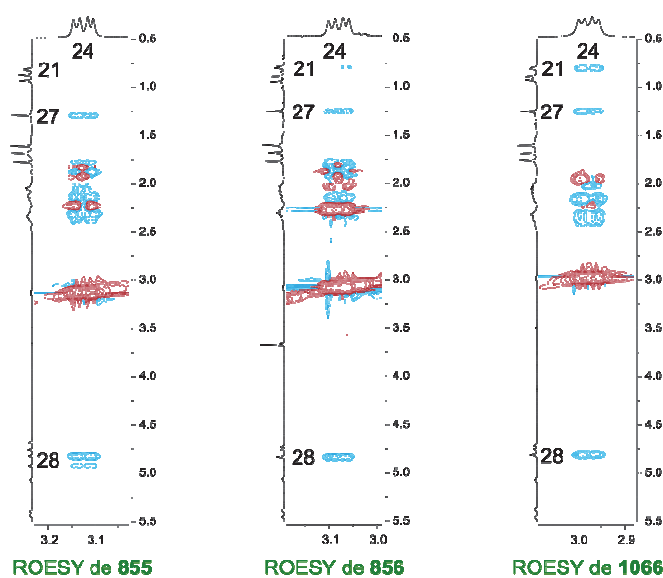


Figure 86 : Spectres ROESY des composés **855**, **856** et **1066**

Comme pour les autres composés vus jusqu'à maintenant, une corrélation ROESY H-24/H₃-27 est visible sur chaque spectre. Également, une corrélation H-24/H₃-21 est visible sur le spectre de la molécule **1066**, mais pas sur ceux des composés **855** et **856**. Cela semble donc confirmer l'assignation proposée.

4.3.5 Résumé

Pour résumer, les structures proposées pour les tétraterpènes isolés sont données à la figure 87.

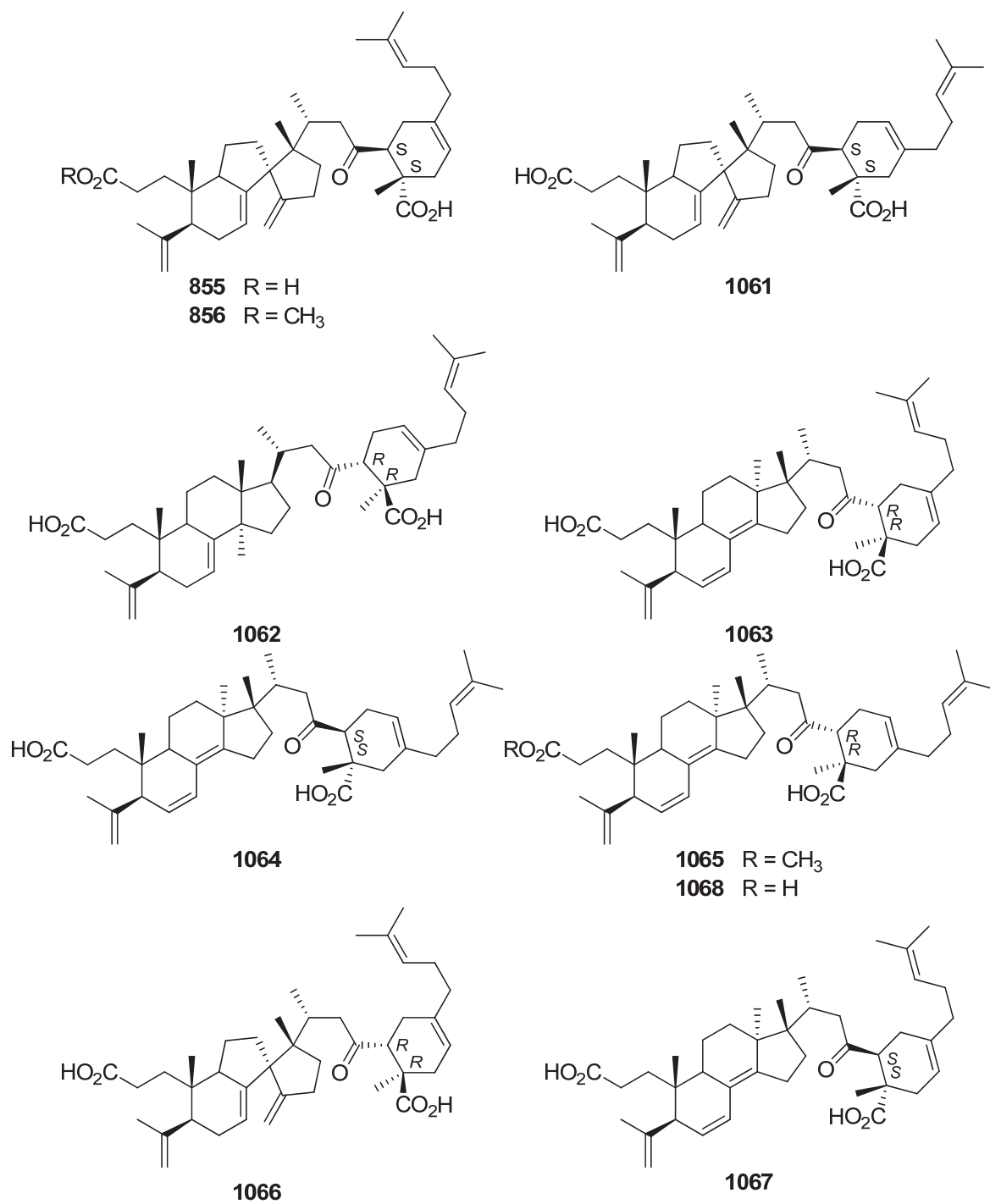


Figure 87 : Structure définitive des composés **855**, **856** et **1061-1068**

4.4. Activité biologique

La cytotoxicité des tétraterpènes isolés a été évaluée contre les carcinomes pulmonaires (A549), les adénocarcinomes colorectaux (DLD-1) et les fibroblastes dermiques (WS1). Celle-ci est exprimée par la concentration nécessaire pour inhiber à 50 % la croissance des cellules (IC_{50}). Les résultats sont donnés au tableau 46.

Tableau 46 : Cytotoxicité des tétraterpènes **855**, **856** et **1061-1068**

Produits	IC_{50} (μM) ^a		
	A549	DLD-1	WS1
855	22 \pm 4	> 50	> 50
856	8,7 \pm 0,7	15 \pm 1	14,7 \pm 0,2
1061	nt ^b	nt	nt
1062	17 \pm 2	> 50	> 50
1063	25 \pm 4	> 50	> 50
1064	37 \pm 5	> 50	> 50
1065	7 \pm 2	25 \pm 3	24 \pm 3
1066	25 \pm 3	> 50	> 50
1067	10 \pm 1	> 50	> 50
1068	9 \pm 4	> 50	> 50
Etoposide^c	0,3 \pm 0,1	1,0 \pm 0,4	5 \pm 1

^a concentration inhibant à 50 % la prolifération cellulaire ; ^b nt : non testé ; ^c Témoin positif

Tous les composés isolés sont cytotoxiques contre A549 avec des IC_{50} entre 7 et 37 μM . Trois composés sont particulièrement actifs, soit les esters méthyliques **856** (8,7 \pm 0,7 μM) et **1065** (7 \pm 2 μM), ainsi que le composé **1068** (9 \pm 4 μM). Une autre observation importante est la sélectivité des composés. En effet, bien que tous soient actifs contre A549, presque tous sont inactifs contre DLD-1 et WS1 (> 50 μM). Seuls les esters méthyliques **856** et **1065** sont actifs contre DLD-1 et WS1. Finalement, il faut savoir que les tétraterpènes isolés à partir d'*A. fabri* (**853-854**) se sont avérés eux aussi actifs (IC_{50} entre 3 et 51 μM) contre différentes lignées cellulaires (A549, HCT116, MDA-MB-435 et ZR-75-30) [199].

Tous les composés du tableau 46 ont aussi été testés pour leurs activités antibactériennes. Deux souches ont été utilisées, soit *E. coli* et *S. aureus*. Des lectures 6 h après le début de l'expérience semblaient indiquer une légère activité probiotique (figure 88). Cependant, après 24 h, l'augmentation de la prolifération bactérienne semblait avoir été annulée.

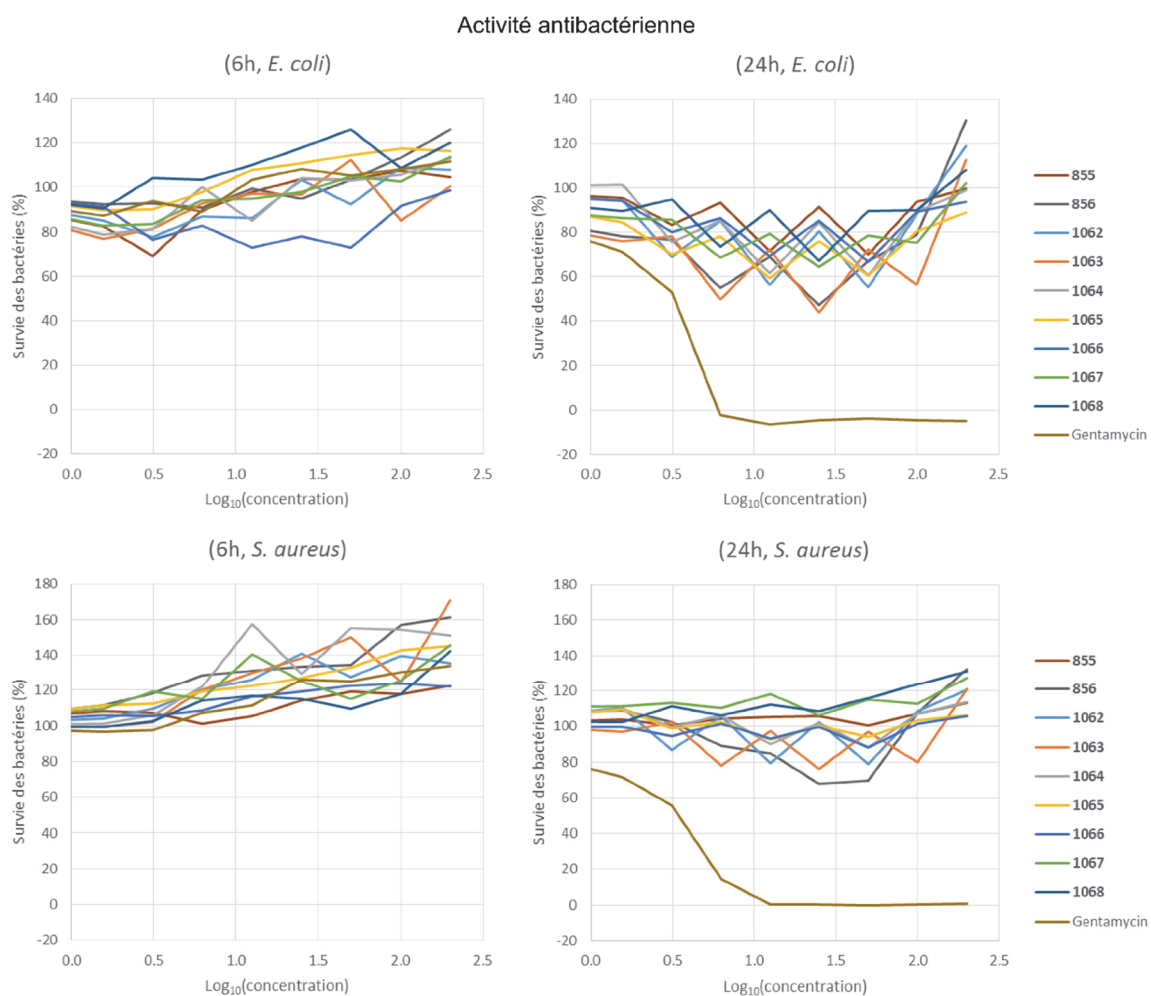


Figure 88 : Activité antibactérienne des composés isolés d'*Abies balsamea*

5. DISCUSSIONS ET CONCLUSION

Les travaux sur l'oléorésine du sapin baumier ont permis l'isolement de huit nouveaux tétraterpènes (**1061-1068**), en plus des deux tétraterpènes [198] et des dix-huit autres terpènes [182] isolés précédemment. La structure des nouveaux tétraterpènes a été déterminée grâce à l'analyse des données HRMS et RMN. Le dichroïsme circulaire s'est avéré inutile pour déterminer leur stéréochimie, mais celle-ci a quand même pu être élucidée grâce à l'analyse des spectres ROESY et à la modélisation moléculaire. Le profil stéréochimique des tétraterpènes confirme hors de tout doute l'implication d'une réaction de Diels-Alder dans la biosynthèse de ces derniers. Deux questions peuvent être posées :

- Est-ce que les tétraterpènes isolés sont des artéfacts dus au processus d'isolement?
- Une enzyme est-elle impliquée dans la réaction de Diels-Alder?

Au sujet des artéfacts, il est vrai que le β -myrcène (**299**), ainsi que les triterpènes à l'origine des tétraterpènes ont été détectés dans l'oléorésine du sapin baumier par chromatographie gazeuse (GC-MS, résultats non montrés). Ces composés auraient pu réagir lors d'une des étapes d'isolement pour former les tétraterpènes. Le diénophile impliqué dans la réaction est la chaîne latérale des triterpènes, un alcène trisubstitué par une cétone, un méthyle et un acide carboxylique. Les deux groupements électroattracteurs rendent ce diénophile très réactif, mais la présence du méthyle crée une gêne stérique. Malgré cela, des réactions de Diels-Alder avec un tel diénophile existe, mais des conditions de température élevée [369] ou de catalyse [370] sont nécessaires (figure 89).

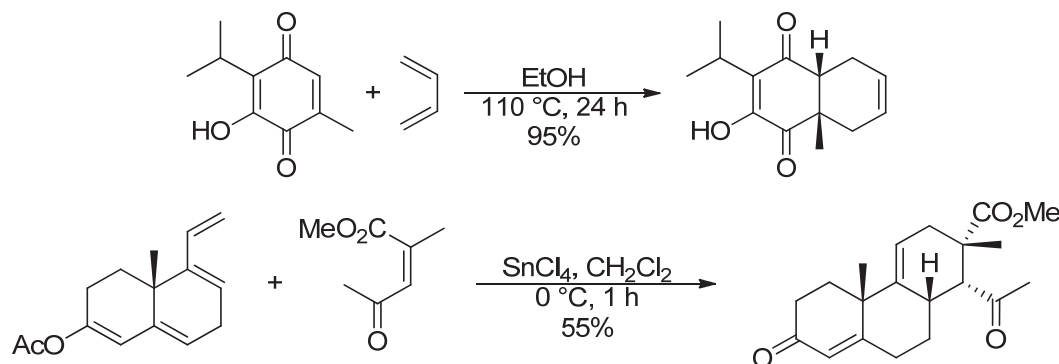


Figure 89 : Exemples de réaction de Diels-Alder avec un diénophile trisubstitué

Quant au β -myrcène (**299**), il a été utilisé dans un grand nombre de réactions de Diels-Alder [371]. Ce dernier a même été utilisé dans une réaction dépourvue de solvant. Dans ce cas, le gel de silice activé était utilisé pour catalyser la réaction [372].

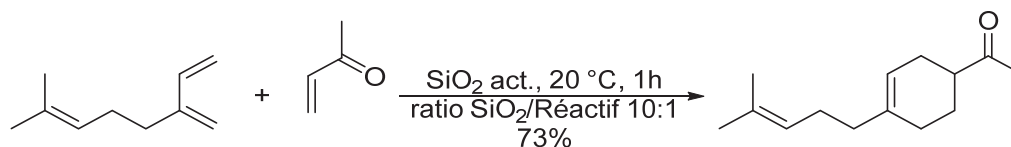


Figure 90 : Réaction de Diels-Alder avec le β -myrcène (**299**)

Plusieurs de ces informations supportent la thèse selon laquelle les tétraterpènes isolés sont des artéfacts. En effet, l'oléorésine contenait du β -myrcène (**299**) et celle-ci a été en contact avec du gel de silice à de nombreuses reprises de sorte que la transformation aurait pu s'y produire. Cependant, les auteurs précisent que la réaction sur le gel de silice nécessitait des conditions plus drastiques lorsqu'elle était effectuée dans un solvant (140 °C, 5 h) [372]. Pour trancher, une petite quantité d'oléorésine a été méthylée au diazométhane [373] puis injectée sur GCMS (figure 91). Les temps de rétention tardifs, ainsi que la présence d'ions moléculaires aux m/z recherchés suggèrent que certains des pics du chromatogramme soient des tétraterpènes. Ce fait suggère que ces composés sont naturels, mais il n'est pas exclu que leur concentration ait été augmentée de manière artificielle.

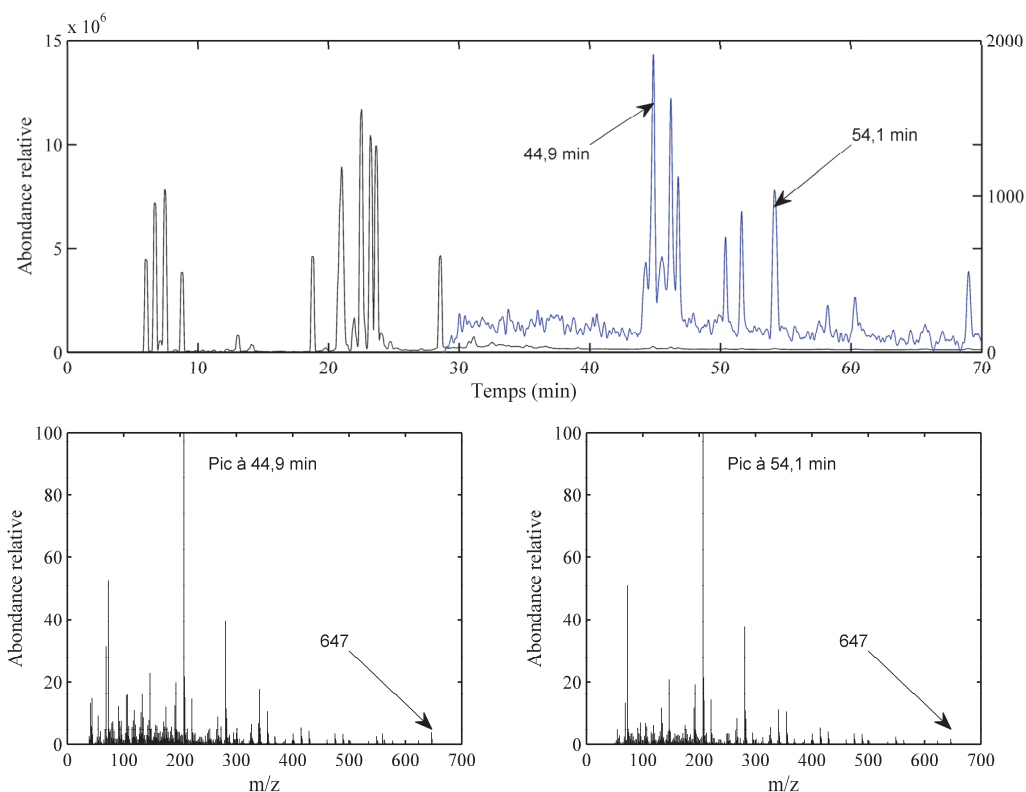


Figure 91 : Chromatogramme GC de l'oléorésine méthylée
 En haut, noir : courant ionique total ; en haut, bleu : extraction des ions $m/z > 600$, agrandie verticalement (100×) ; en bas, spectres de masses.

Pour ajouter à la compréhension, il faudrait simuler la réaction avec l'un des triterpènes précurseurs (**825**, **831** ou **838**) et le β -myrcène (**299**) dans des conditions proches de celles utilisées dans les différentes étapes d'isolement. À cet effet, il est bon de savoir que l'acide firmanoïque (**760**) et l'acide 3,23-dioxo-9,19-cyclolanost-24-én-26-oïque (**1069**), deux triterpènes avec des chaînes latérales identiques aux composés isolés, sont disponibles commercialement (figure 92).

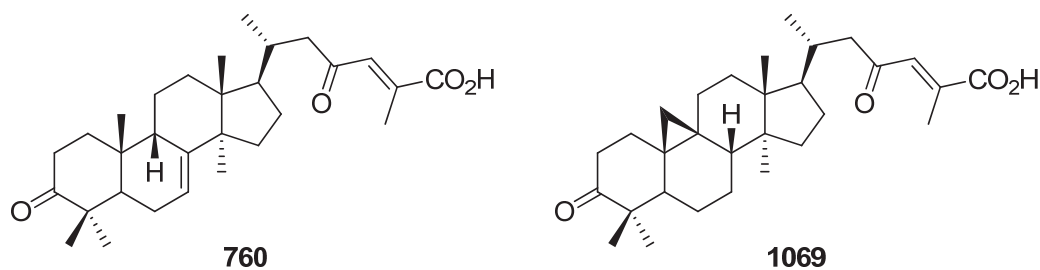


Figure 92 : Substrats disponibles commercialement

En supposant que les tétraterpènes isolés ne soient pas des artéfacts, est-ce que leur biosynthèse aurait été catalysée par une Diels-aldérase? Il existe un grand nombre d'exemples de produits naturels pour lesquels une réaction de Diels-Alder a été démontrée dans leur biosynthèse [374]. Des Diels-aldérases ont même été isolées dans certains cas [375]. L'isolement de plusieurs tétraterpènes diastéréoisomériques suggère à première vue l'absence d'enzyme. Mais en y regardant de plus près, l'inverse est aussi possible. En effet, comme démontré dans les travaux d'Auclair [375], l'étape de cyclisation du polycétide **1070** pour former les décalines **1071-1074**, des composés similaires à un précurseur de la lovastatine, est une réaction de Diels-Alder. Dans l'étude, la réaction effectuée sans enzyme conduit à seulement deux diastéréoisomères (**1072** et **1073**), étant donné la présence d'un élément de chiralité dans le précurseur (méthyle en position 6). Lorsque l'enzyme est ajoutée, un troisième diastéréoisomère est formé (**1071**), en plus des deux premiers. Cela indique que l'enzyme change le cours normal de la réaction et permet l'apparition de stéréoisomères qui ne sont pas forcément privilégiés dans une réaction sans catalyseur.

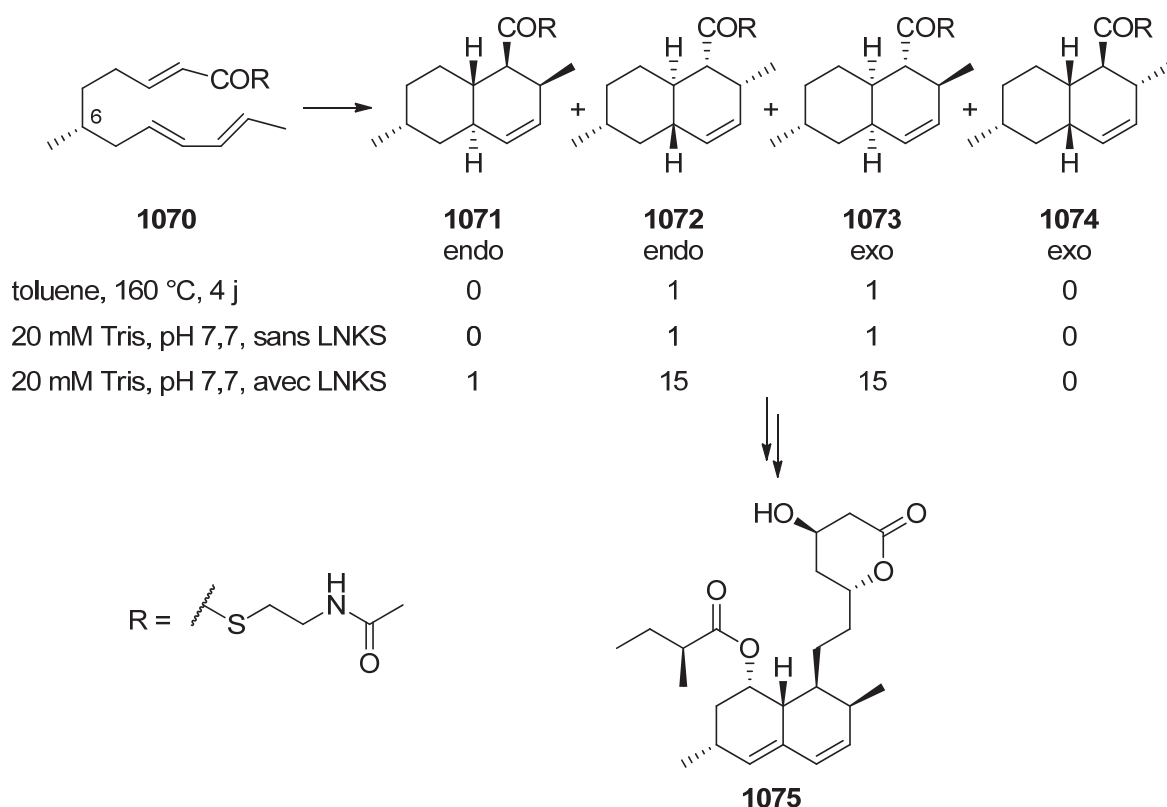


Figure 93 : Réaction de Diels-Alder impliquée dans la biosynthèse de la lovastatine (**1075**)

Comme mentionné au chapitre 2, d'autres tétraterpènes ont été isolés à partir du sapin. En effet, le groupe de Zhang a isolé deux composés tétraterpéniques (**853**, **854**, voir p. 114), de structures très proches des composés **1061-1068**, à partir de la partie aérienne d'*Abies fabri* [199]. L'isolement a été réalisé par extraction des aiguilles dans l'éthanol bouillant puis par chromatographie sur gel de silice. Malheureusement, les auteurs n'ont pas évoqué la possibilité que leurs isolats aient été formés de manière artificielle. Aussi, la stéréochimie absolue des molécules a été déterminée par la comparaison des spectres de dichroïsme circulaire expérimentaux et théoriques (TDDFT B3LYP/3-21g//B/LYP/3-21g). Cependant, il a été montré que cette technique spectroscopique n'est pas adaptée pour discriminer les diastéréoisomères au niveau de la chaîne latérale (voir p. 265), leur conclusion apparaît donc prématurée. Le même groupe a aussi isolé, à partir des cônes de *Pseudolarix amabilis*, deux hétérodimères (**1076**, **1077**) formés via une réaction de Diels-Alder entre un cycloartane et un labdane (figure 94). Encore une fois, aucun élément n'a été fourni pour juger de l'origine concrète de ces composés. Par contre, leurs caractérisations ont été validées par une étude de cristallographie des rayons X [376]. Il est bon de savoir que les cristaux ont été obtenus à partir des ester de méthyles correspondants.

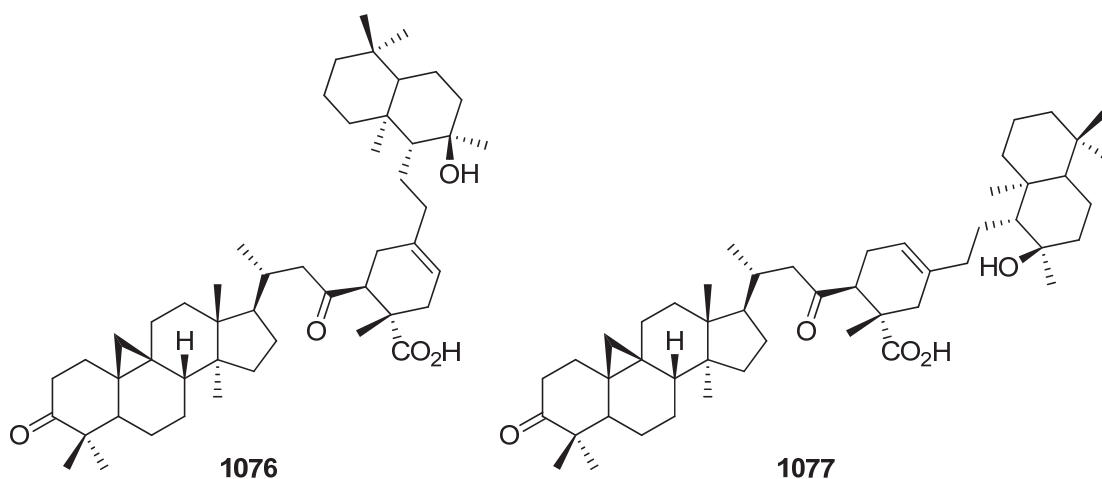
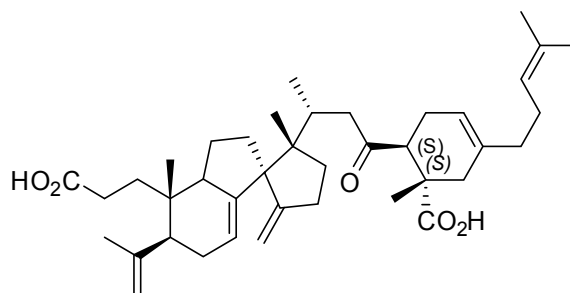
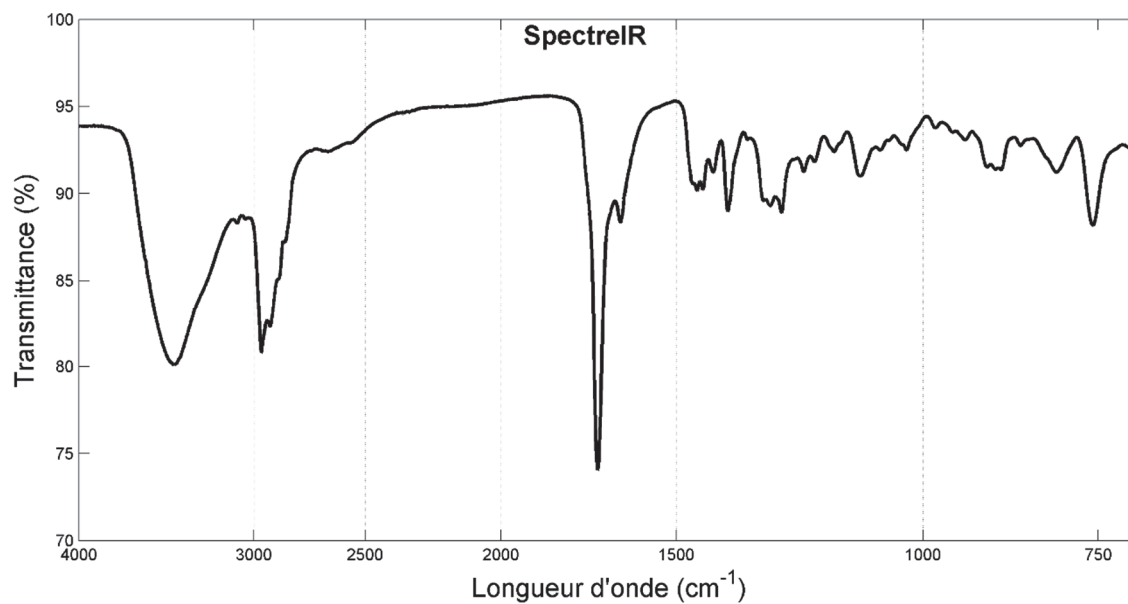
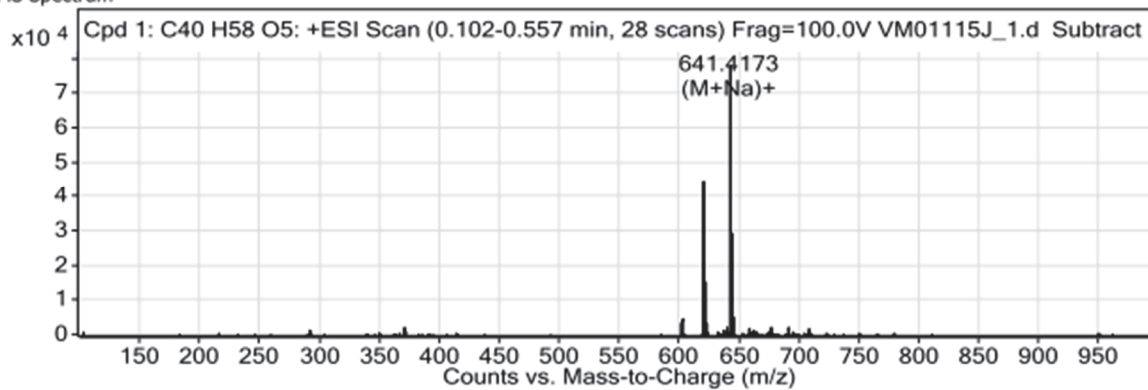


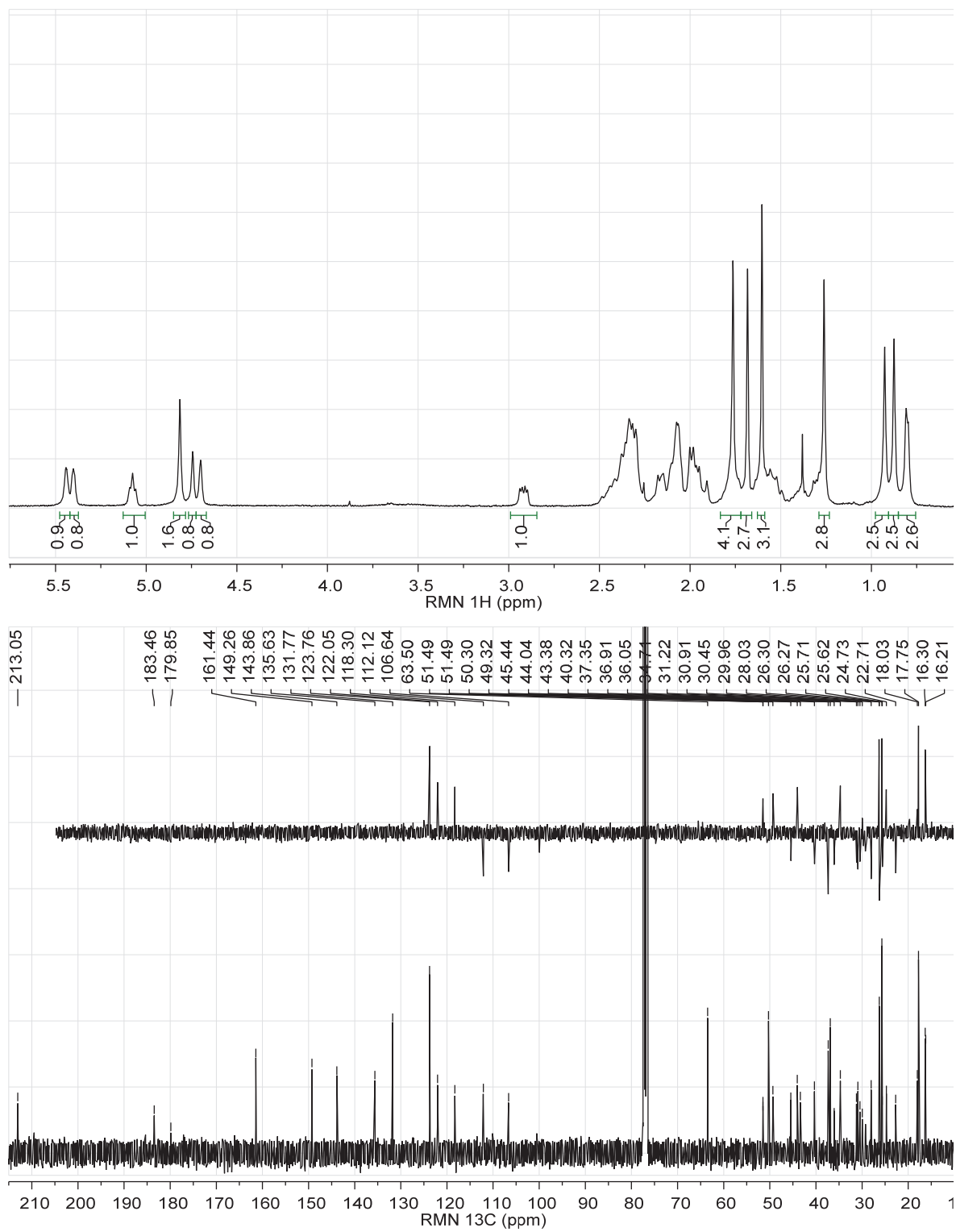
Figure 94 : Hétérodimères isolés à partir des cônes de *Pseudolarix amabilis*

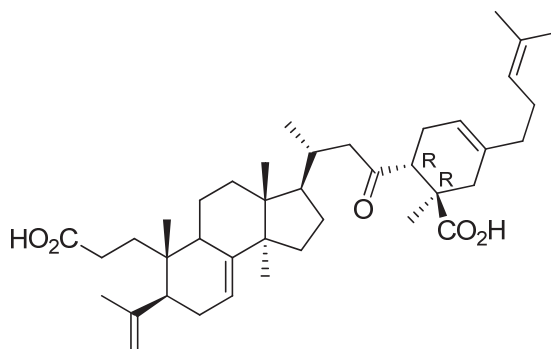
ANNEXE H : INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

Spectres du composé 1061**1061**

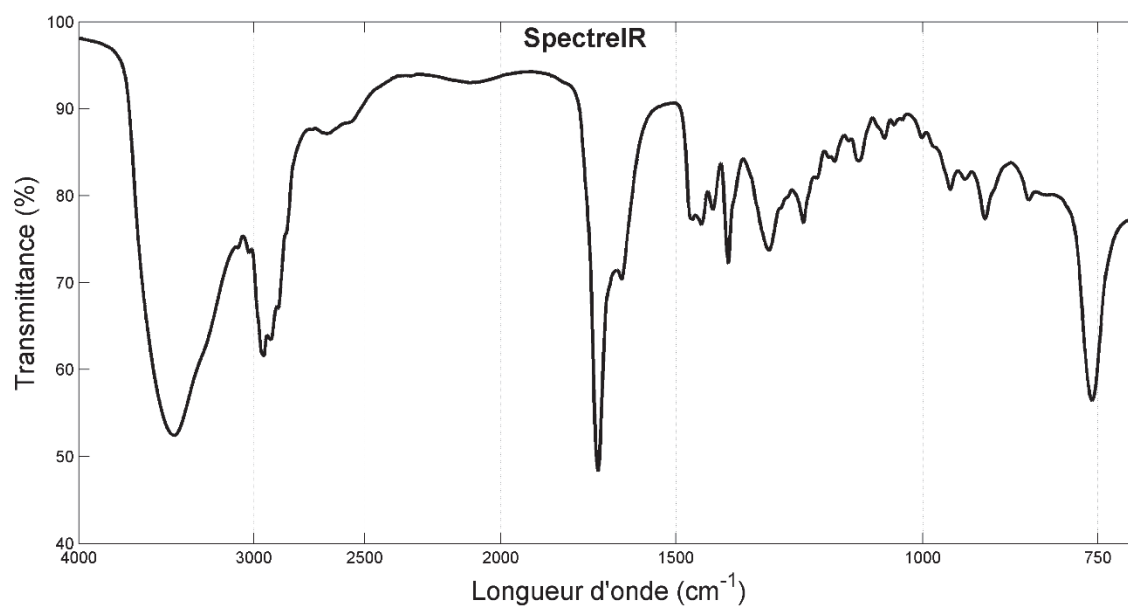
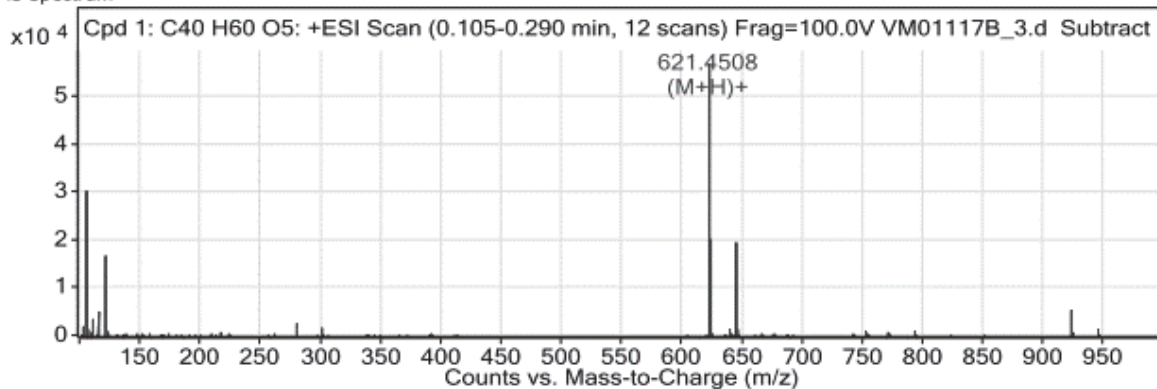
MS Spectrum

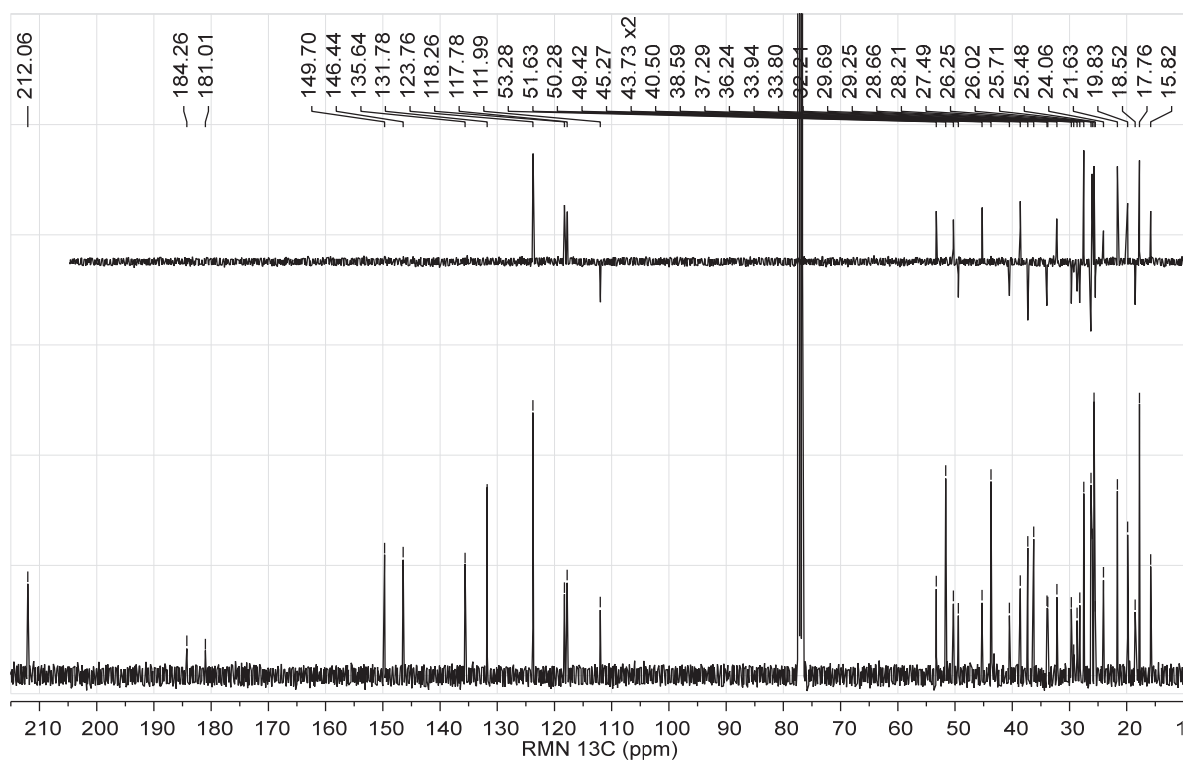
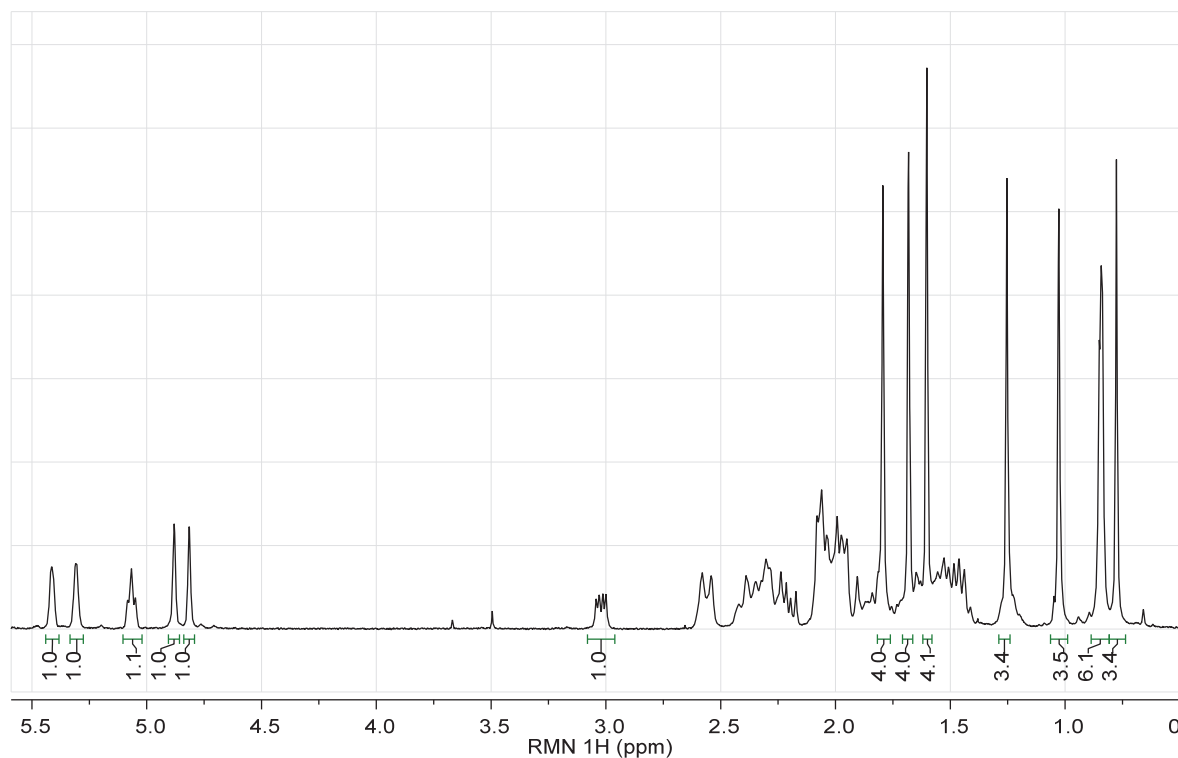


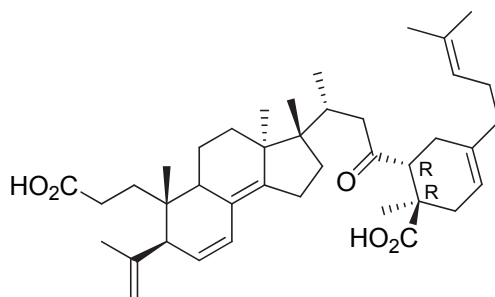


Spectres du composé **1062****1062**

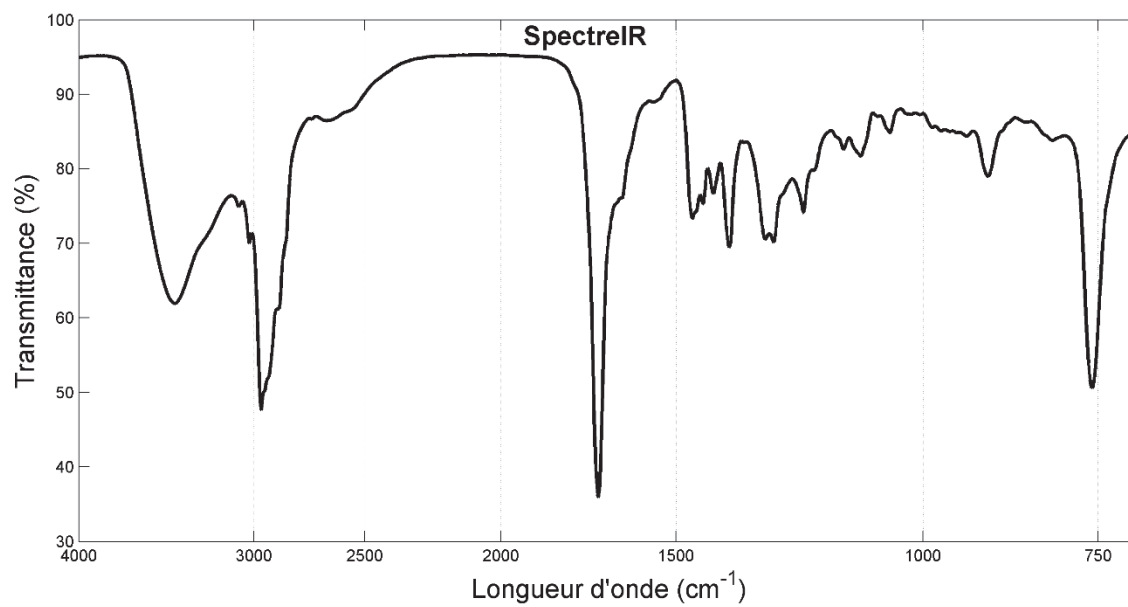
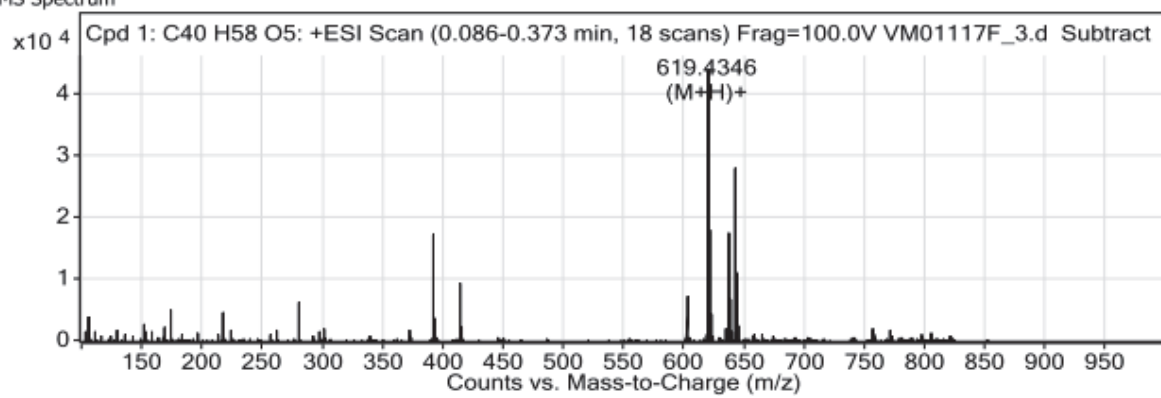
MS Spectrum

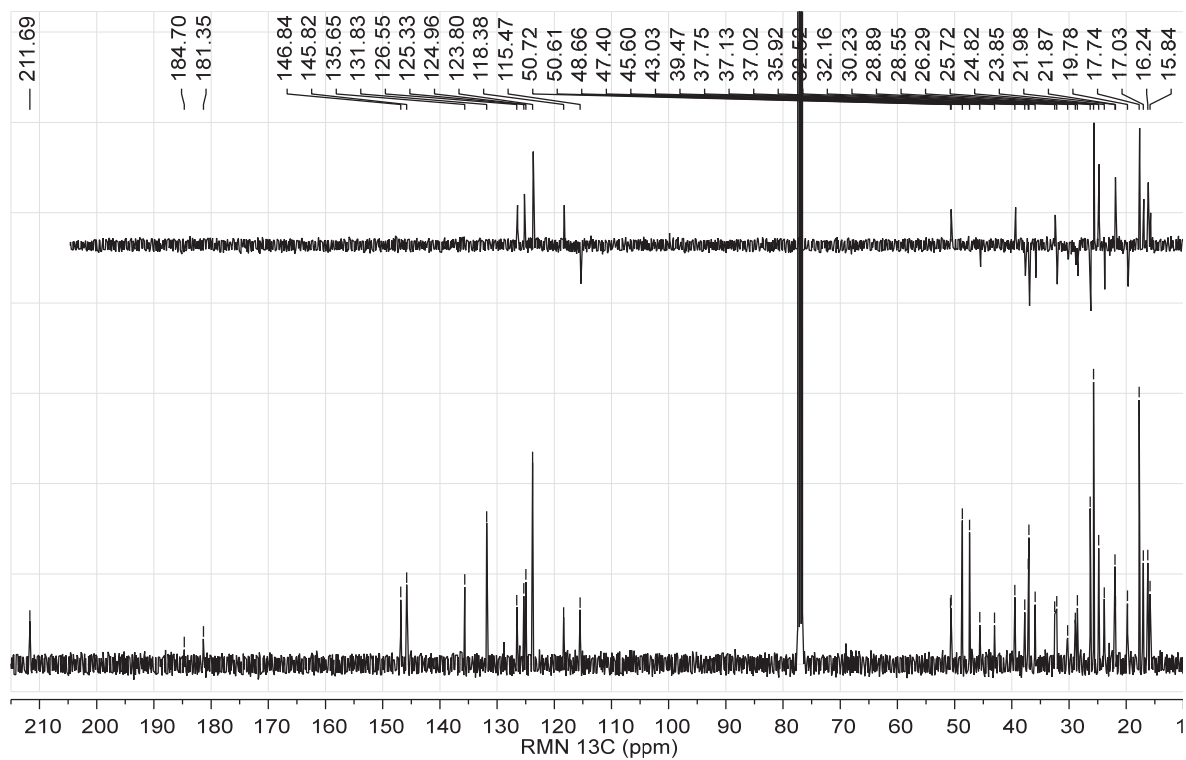
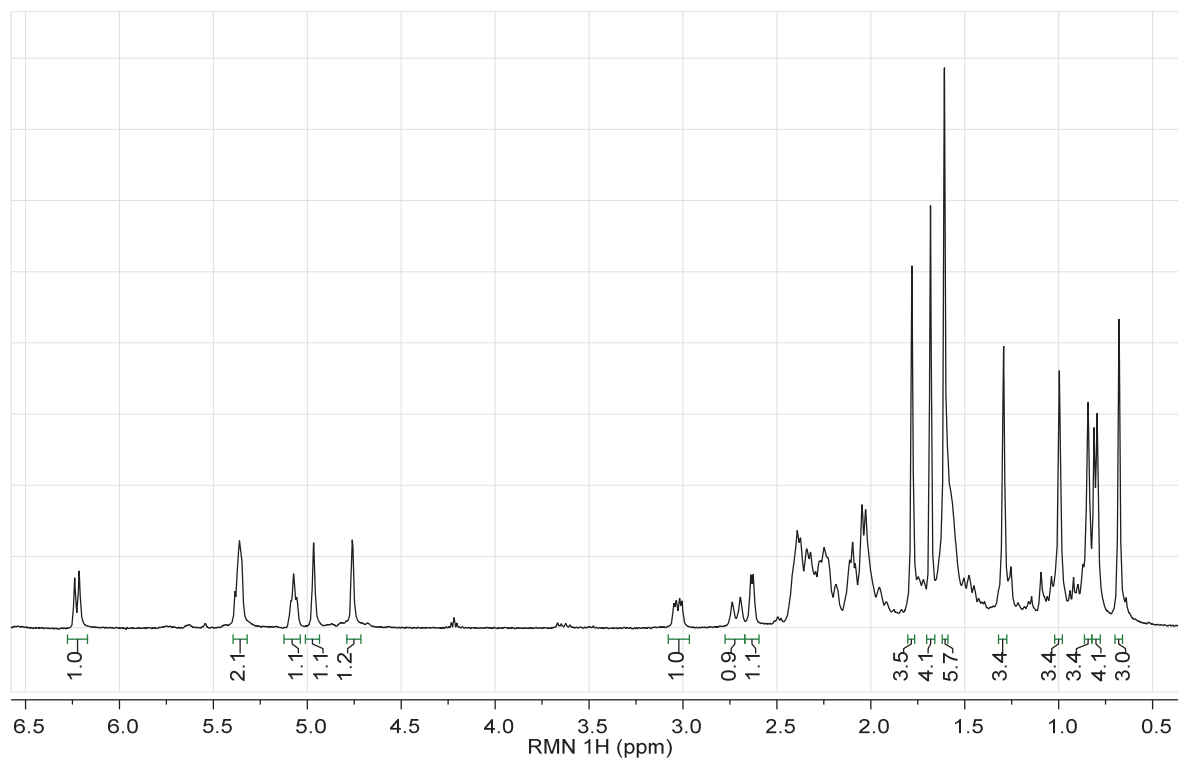


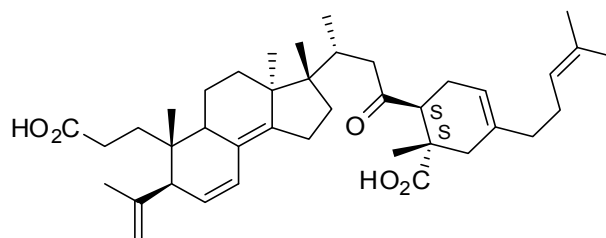


Spectres du composé **1063****1063**

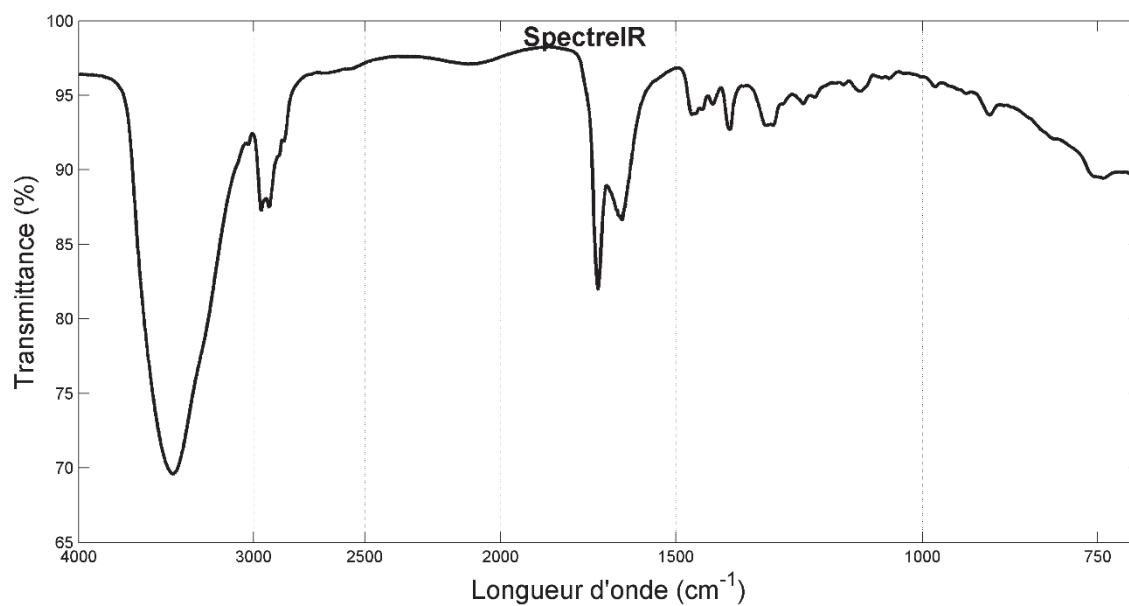
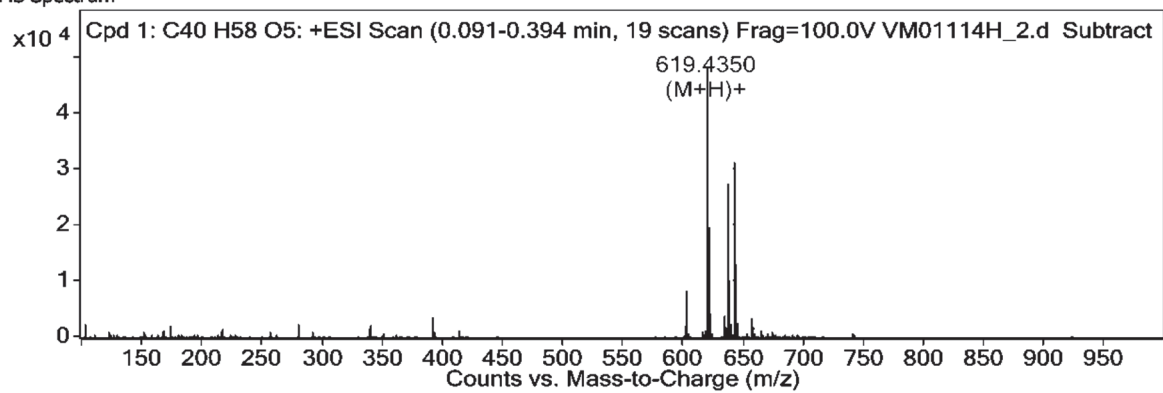
MS Spectrum

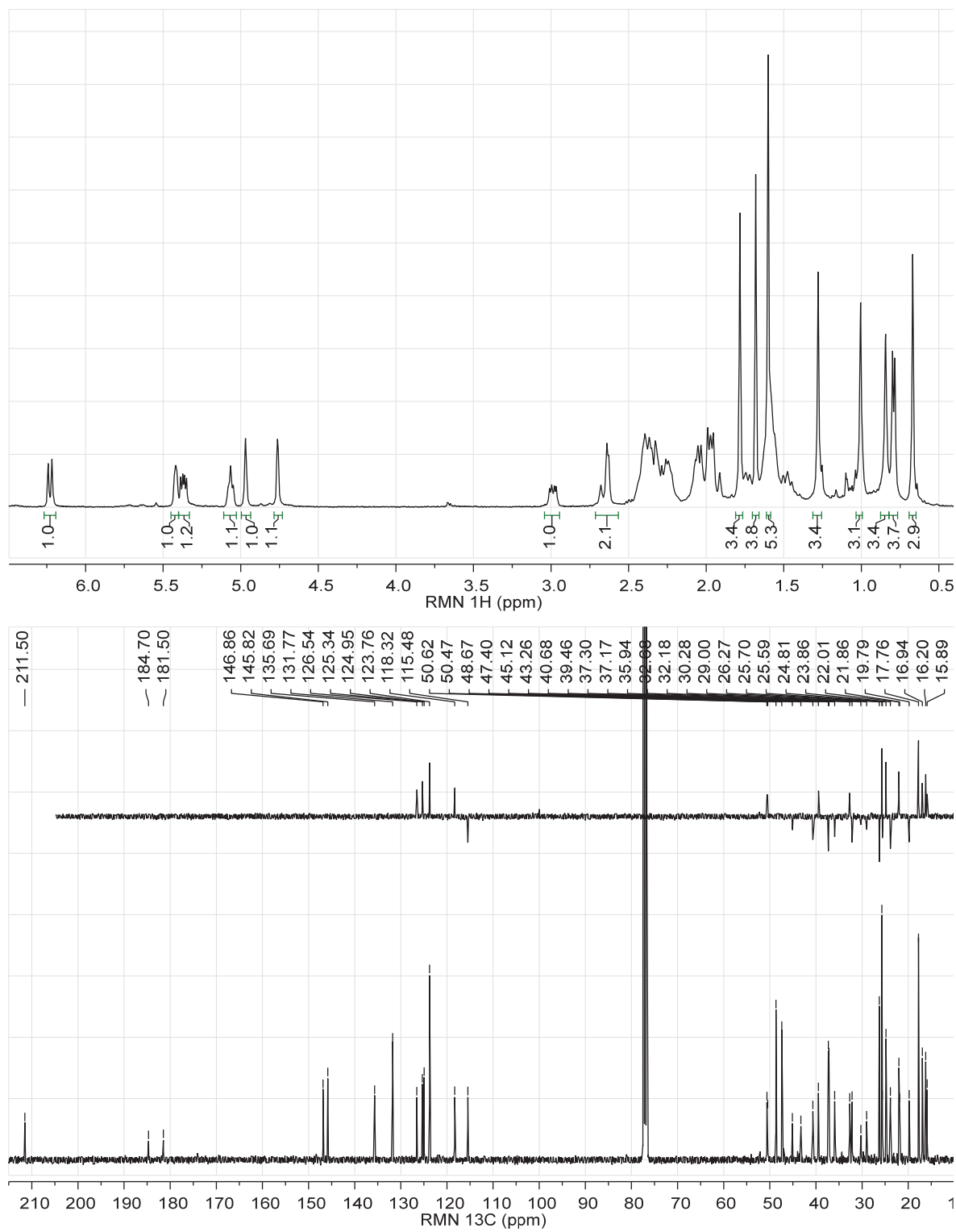


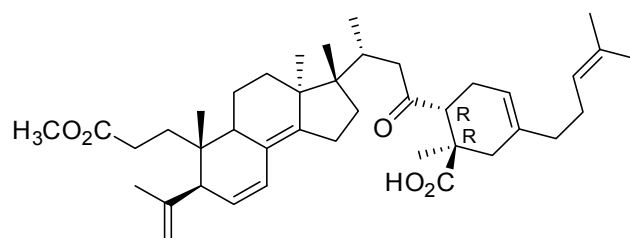


Spectres du composé **1064****1064**

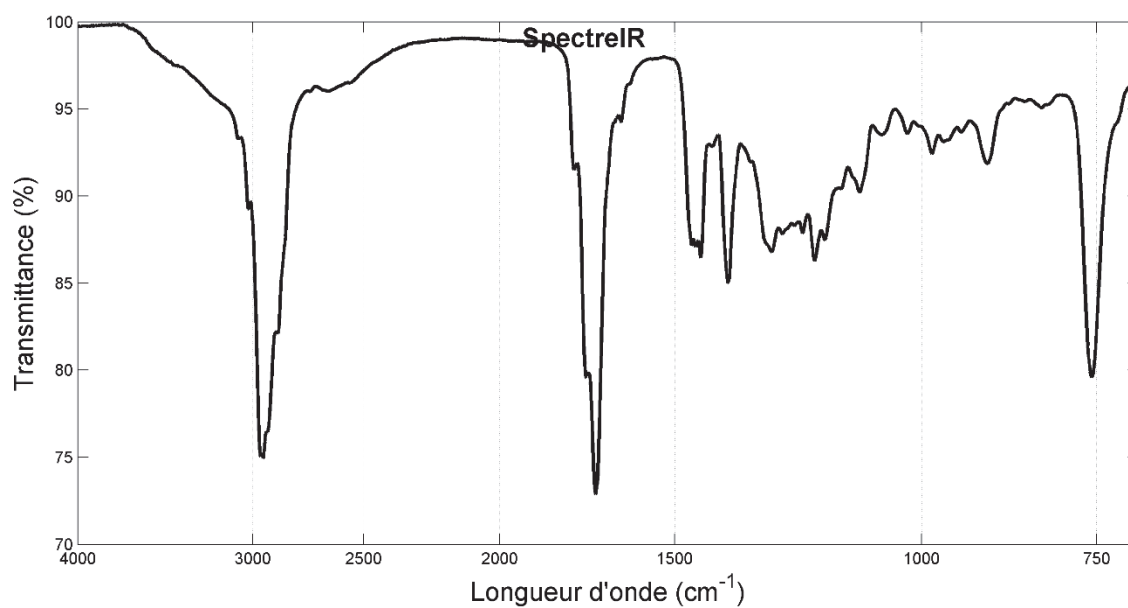
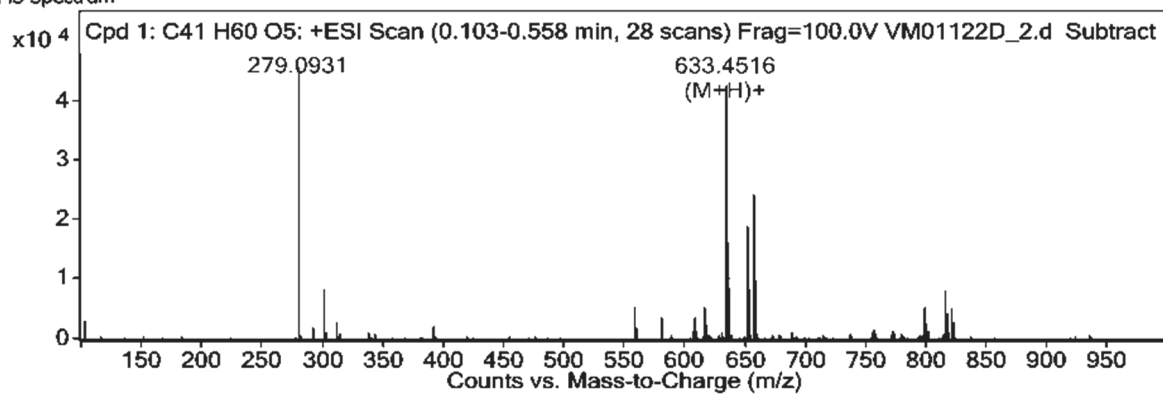
MS Spectrum

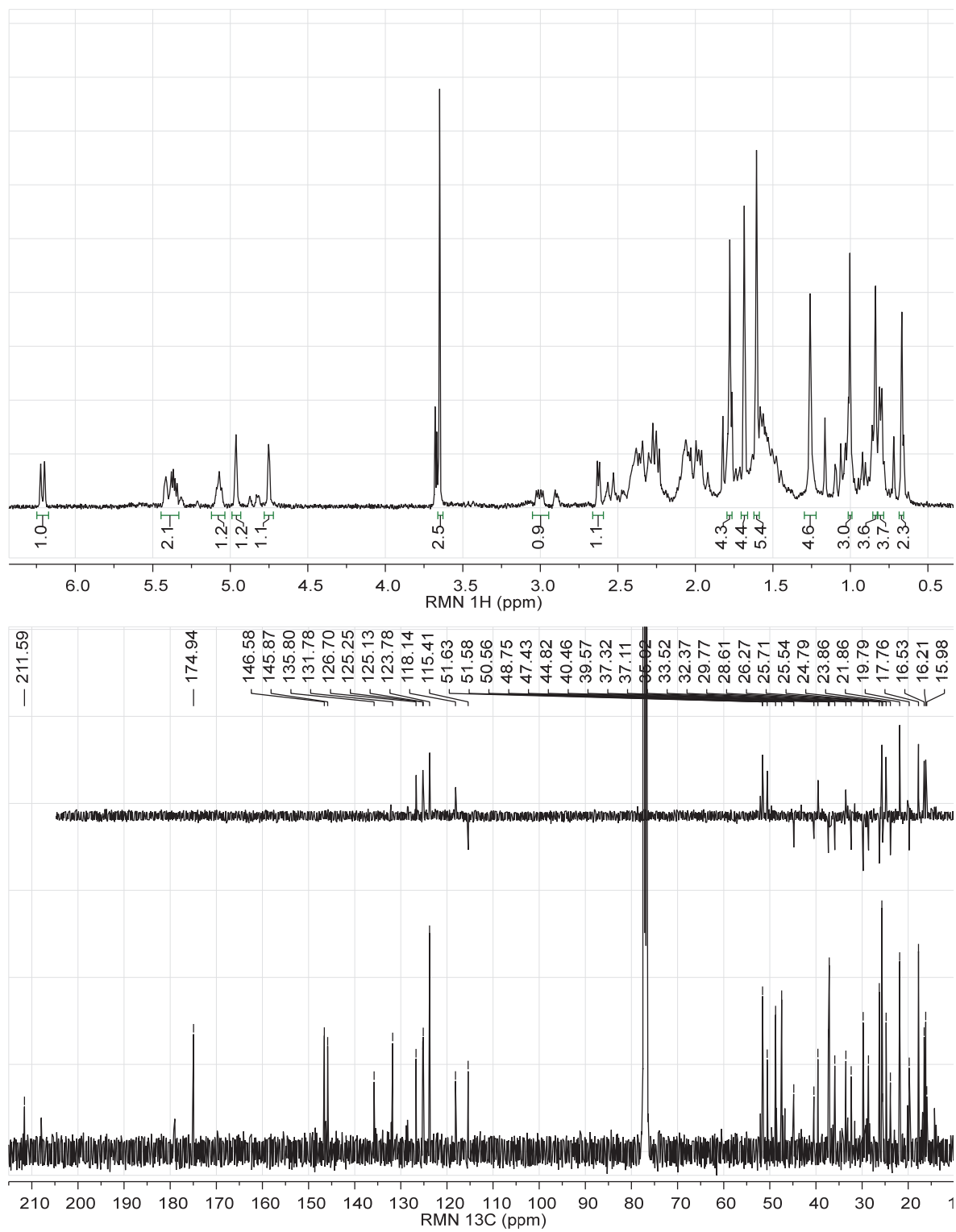


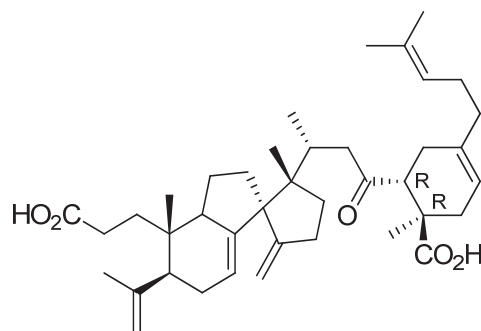
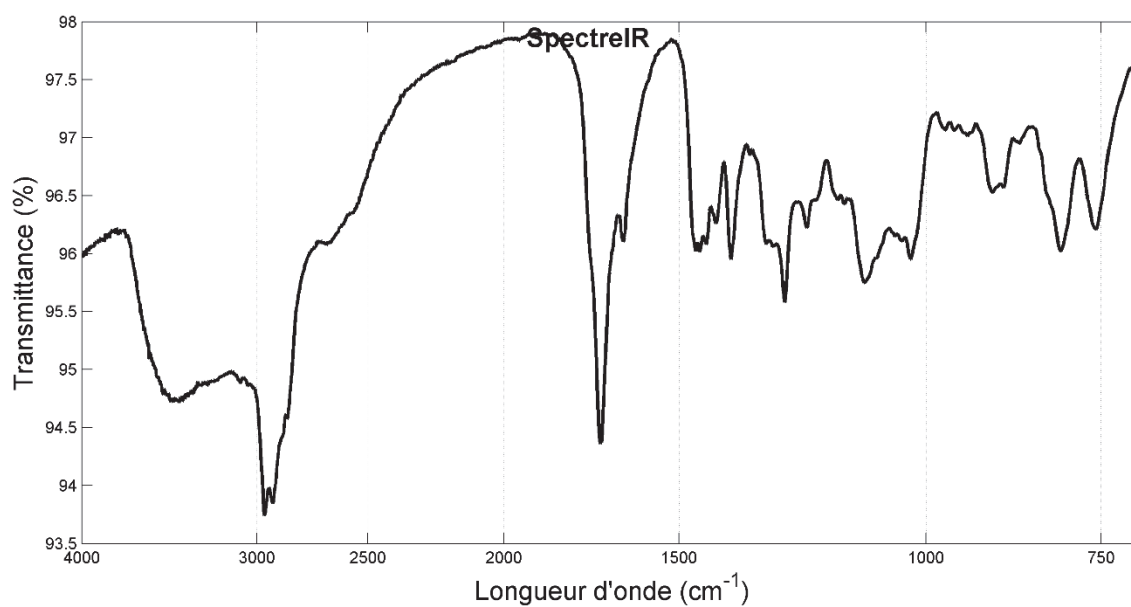
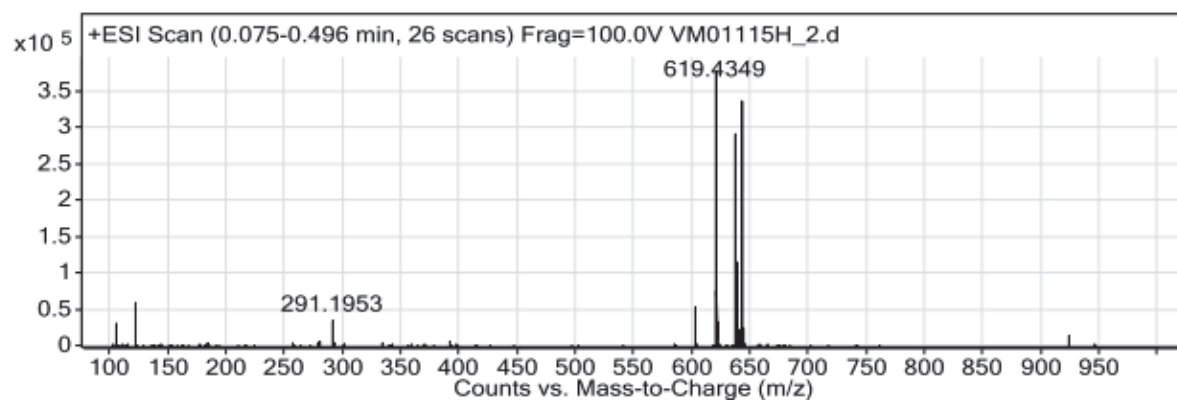


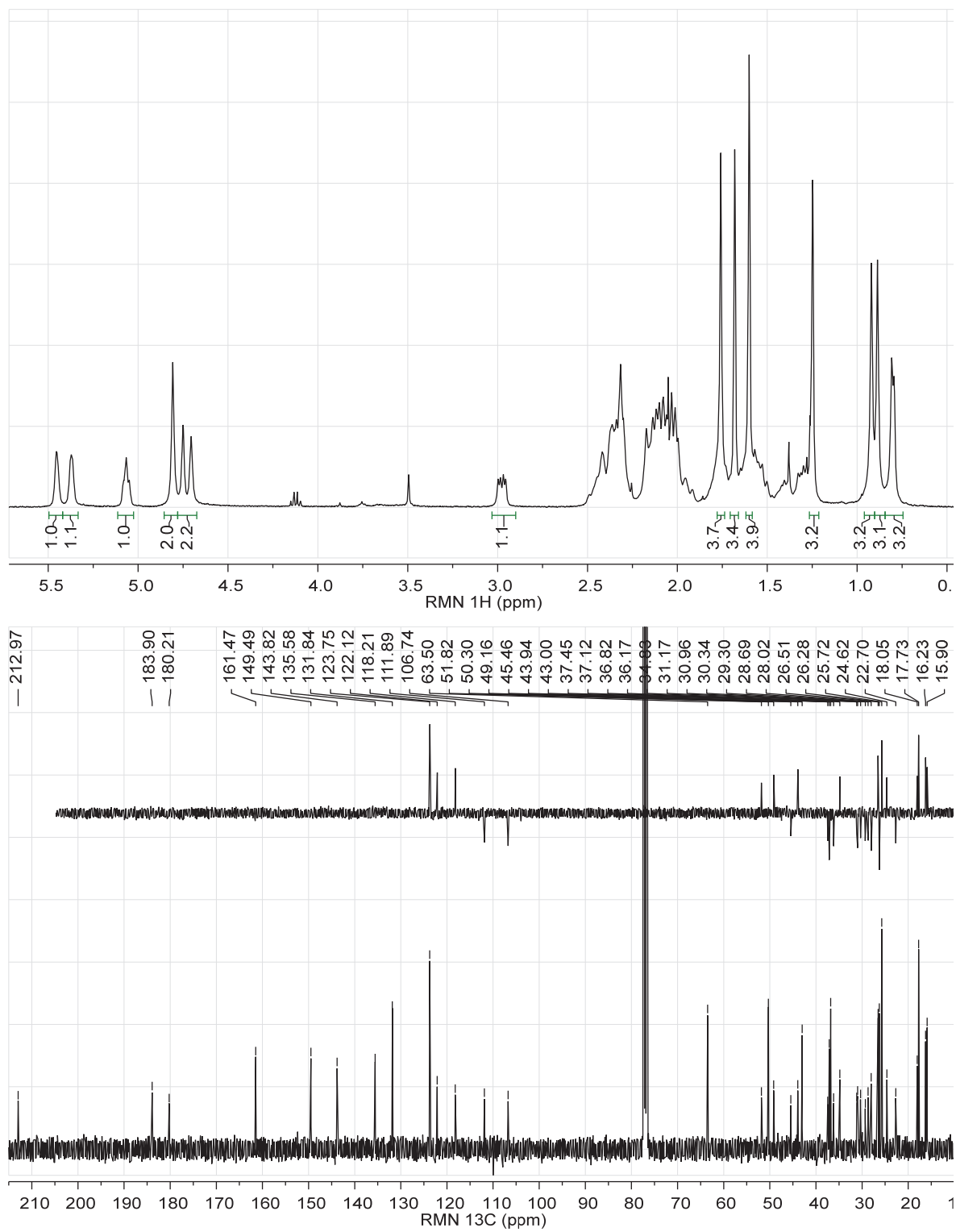
Spectres du composé 1065**1065**

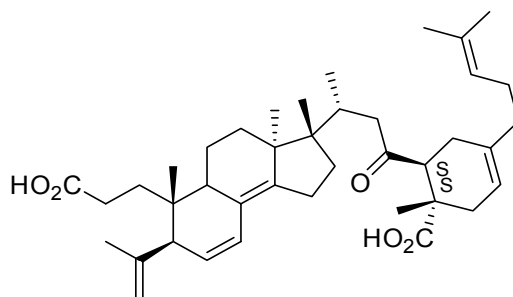
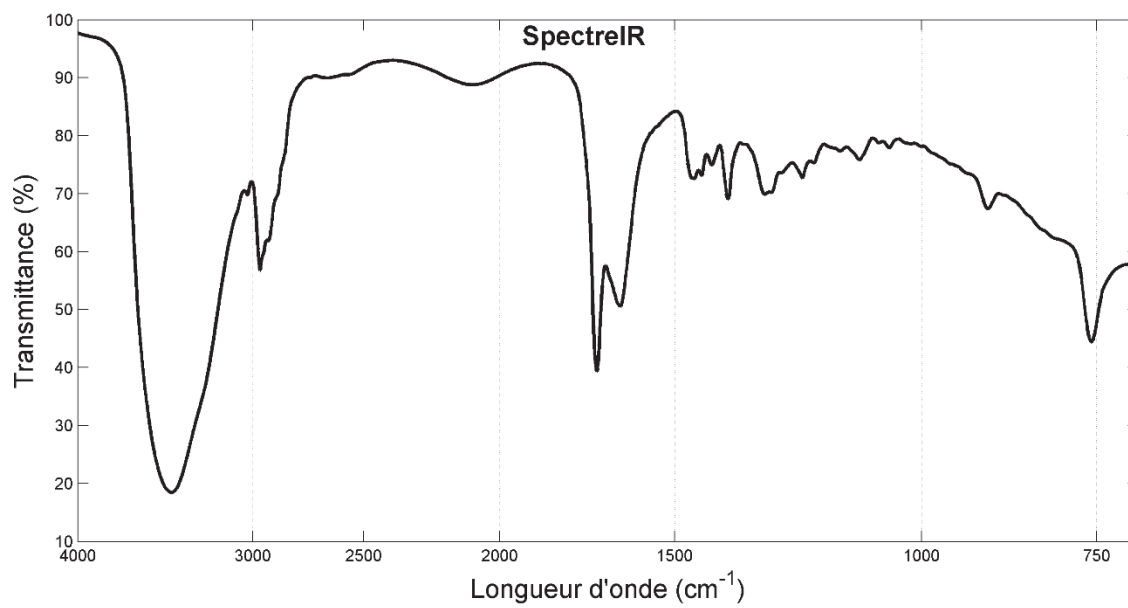
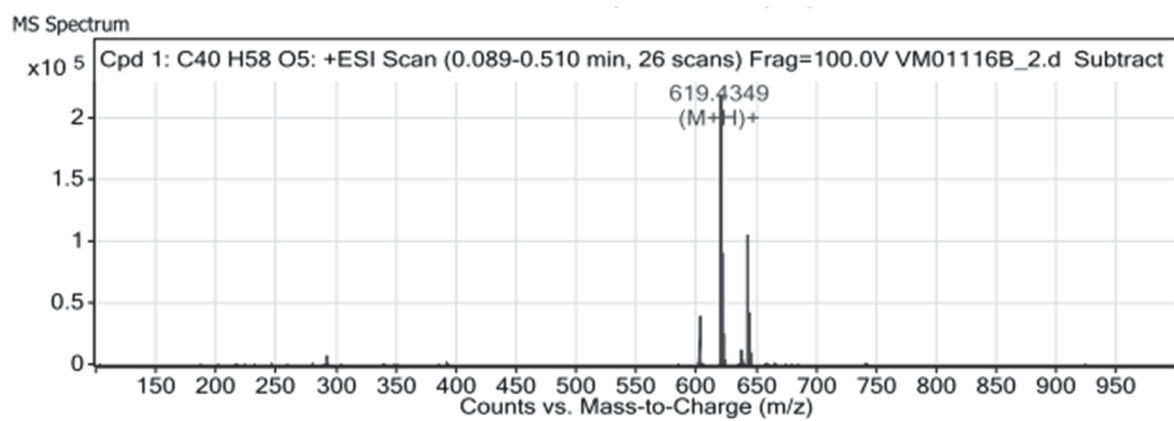
MS Spectrum

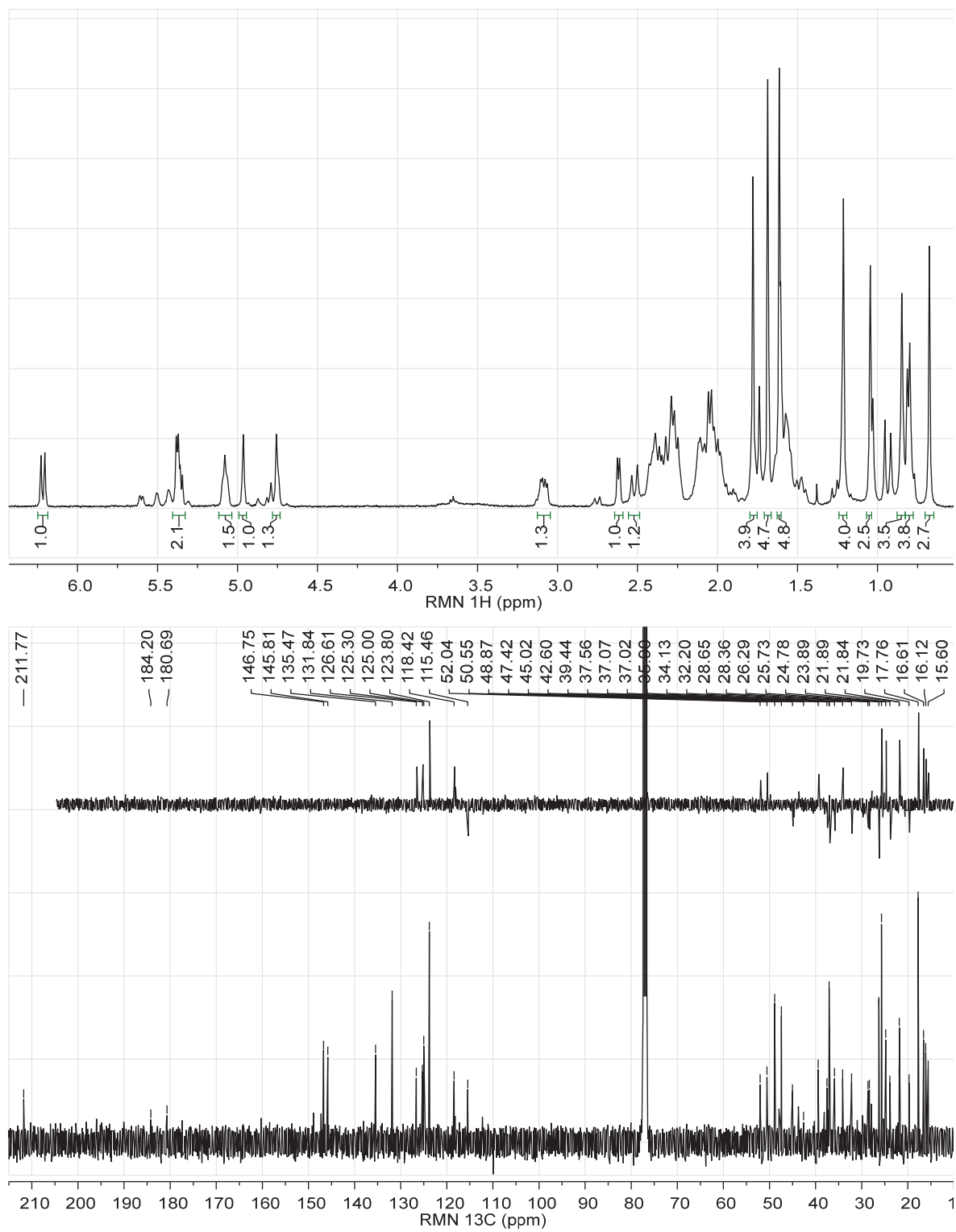


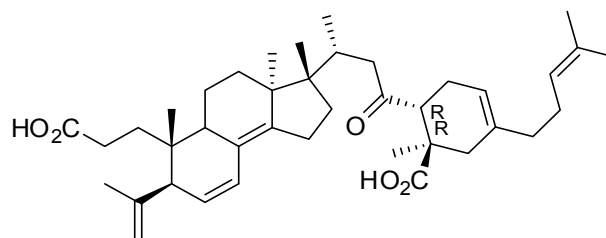
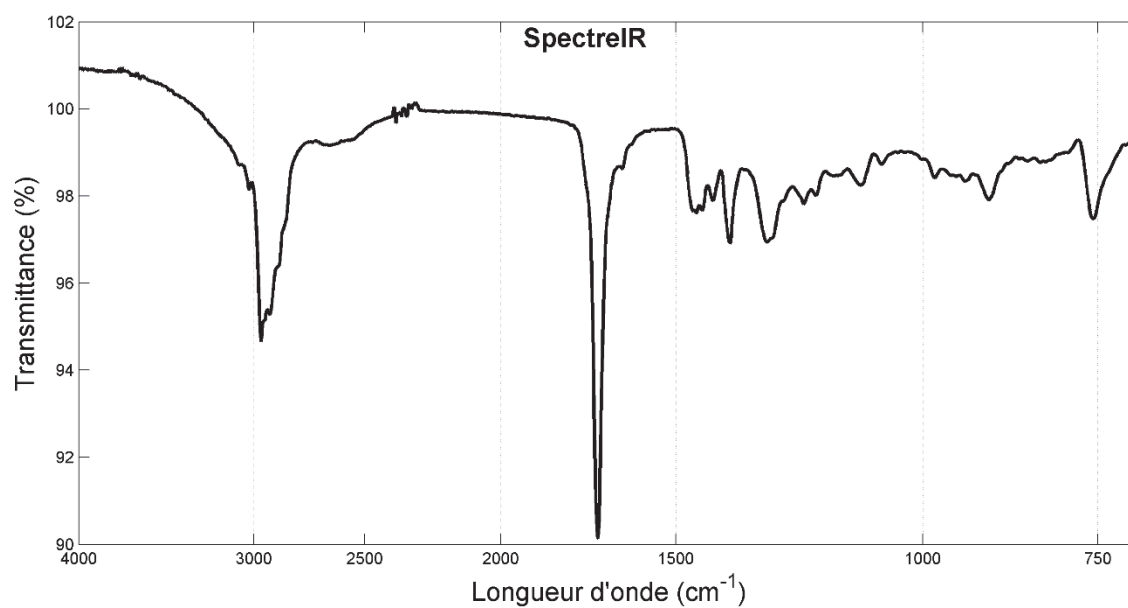
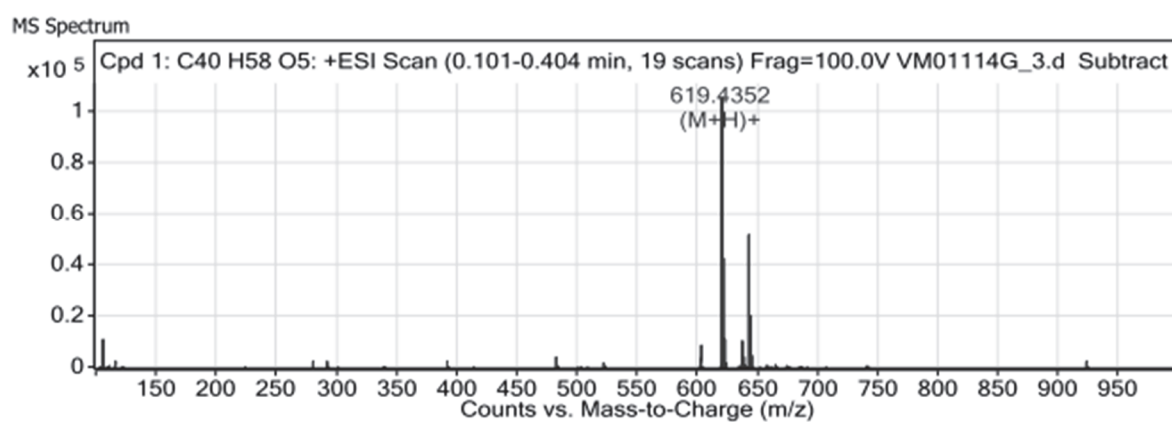


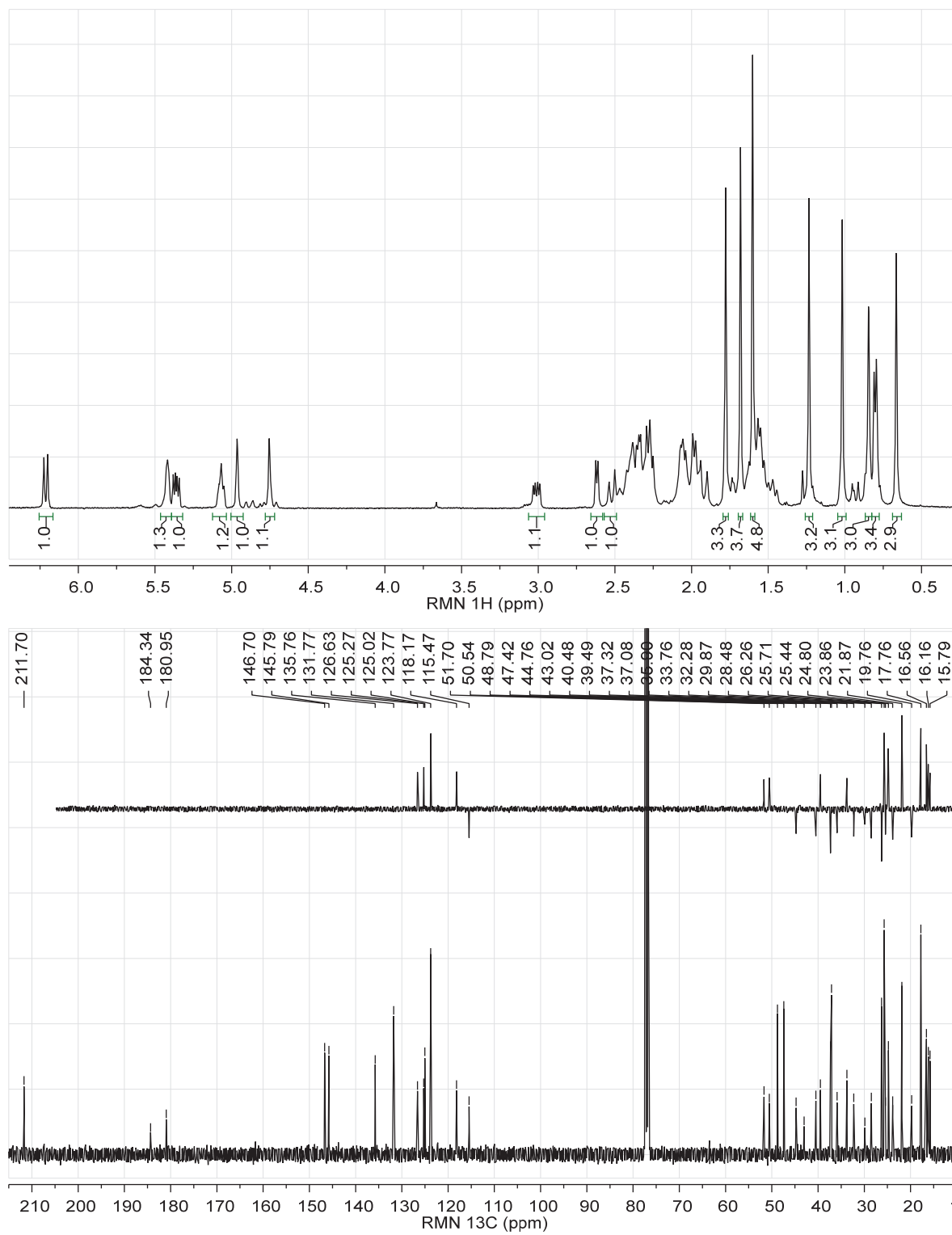
Spectres du composé **1066****1066**



Spectres du composé **1067****1067**



Spectres du composé **1068****1068**



Script Matlab pour identifier les conformères identiques

```
function diff=calcul_diff(mola,molb)
    ra=calculvecteur(mola);
    rb=calculvecteur(molb);
    diff=sum((ra-rb).^2);

function vecteur=calculvecteur(mol)
    vecteur=sqrt(mol(:,1).^2+mol(:,2).^2+mol(:,3).^2);

function mol00 = import_sdf(filename, startRow, endRow)
    if nargin<=2
        startRow = 5;
        endRow = 107;
    end
    formatSpec = '%10f%10f%10f%[^\\n\\r]';
    fileID = fopen(filename,'r');
    dataArray = textscan(fileID, formatSpec, endRow(1)-startRow(1)+1,
        'Delimiter', '', 'WhiteSpace', '', 'HeaderLines', startRow(1)-1,
        'ReturnOnError', false);
    for block=2:length(startRow)
        frewind(fileID);
        dataArrayBlock = textscan(fileID, formatSpec, endRow(block)-
            startRow(block)+1, 'Delimiter', '', 'WhiteSpace', '',
            'HeaderLines', startRow(block)-1, 'ReturnOnError', false);
        for col=1:length(dataArray)
            dataArray(col) = [dataArray(col);dataArrayBlock(col)];
        end
    end
    fclose(fileID);
    mol00 = [dataArray(1:end-1)];

function [res,val]=table_diff(dossier,tresh,type)
    if nargin < 1
        dossier=pwd;
    end
    if nargin < 2
        tresh=0.000001;
    end
    if nargin < 3
        type='sdf';
    end
    nbratome=103;
    if strcmp(type,'sdf')
        list=dir(fullfile(dossier,'mol*.sdf'));
    else
        list=dir(fullfile(dossier,'mol*.xyz'));
    end
    nbr=size(list,1);
    valeurs=zeros(nbr,nbratome,3);
    if strcmp(type,'sdf')
        for i=1:nbr
```

```
        valeurs(i, :, :) = import_sdf(fullfile(dossier, list(i).name), 5, 5-  
            1+nbratome);  
    end  
else  
    for i=1:nbr  
        valeurs(i, :, :) =  
            import_xyz(fullfile(dossier, list(i).name), 3, 2+nbratome);  
    end  
end  
val=zeros(nbr,nbr);  
ligne='';  
res(1)=ligne;  
okliste=0;  
n=1;  
for i=1:nbr  
    if not(ismember(i,okliste))  
        ligne=[strrep(list(i).name, '.xyz', '') ': '];  
        for j=i+1:nbr  
            if not(ismember(j,okliste))  
                val(i,j)=calcul_diff(valeurs(i, :, :), valeurs(j, :, :));  
                if val(i,j)<tresh  
                    ligne=[ligne strrep(list(j).name, '.xyz', '') ', '];  
                    okliste=[okliste j];  
                end  
            end  
        end  
        res(n)=ligne;  
        n = n+1;  
    end  
end  
res=char(res);
```

CHAPITRE 6

ISOLEMENT DE FLAVONOÏDES ET DE TANNINS HYDROLYSABLES À PARTIR DU *CORNUS CANADENSIS*

1. INTRODUCTION

Les virus sont à l'origine de nombreuses maladies que l'homme tente de combattre. Ainsi, le virus *Herpes simplex* de type 1 ou 2 (HSV-1, HSV-2) touche une proportion importante de la population. Ainsi, au niveau mondial, il est estimé que 65 à 90 % des personnes sont porteuses de l'une ou l'autre des deux formes de ce virus [377]. La demande en médicaments facilement accessibles et efficaces contre celui-ci est donc très grande [378]. Cependant, cette infection n'est pas nouvelle. En effet, plusieurs populations à travers le monde ont développé une pharmacopée souvent très efficace contre celle-ci [379]. Depuis quelques années, ce savoir tant à être réactualisé par les scientifiques pour différentes raisons [380]. Tout d'abord, un besoin constant de nouveaux antiviraux motive les chercheurs. En effet, l'utilisation intensive de l'acyclovir, la référence dans le traitement de l'herpès, a induit le développement de résistances à ce traitement par le virus [378]. Également, une mise en valeur de plantes peu utilisées par l'industrie forestière est souhaitable afin de diversifier celle-ci.

Depuis plusieurs années, le Laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales (LASEVE) de l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC) cherche à identifier des molécules issues des plantes de la forêt boréale et qui possèdent diverses activités biologiques. Ainsi, une plate-forme pour évaluer leur potentiels pharmacologiques, nommément les activités cytotoxique, antioxydante, anti-inflammatoire, antifongique et antibactérienne, a été mise au point. Grâce à ce dispositif, plusieurs molécules bioactives ont été identifiées [15, 17, 21, 29, 35] et certaines ont fait l'objet d'un développement plus poussé. Par exemple, l'étude de l'huile essentielle du sapin baumier (*Abies balsamea*) a permis la découverte de l'activité cytotoxique de l' α -humulène [9]. Récemment, le LASEVE a ajouté les tests antiviraux contre l'influenza et l'*Herpes simplex* de type 1 à sa plate-forme d'évaluation de l'activité biologique [39]. Des essais préliminaires ont permis d'identifier plusieurs plantes qui présentent une activité contre ces virus.

Le quatre-temps (*Cornus canadensis* L.) est une plante rhizomateuse poussant partout en Amérique du Nord [5] et qui donne des fruits rouges consommés par les peuples autochtones. Plusieurs parties de la plante étaient utilisées pour traiter des coliques (thé avec les racines), la paralysie (thé avec la plante entière), des douleurs abdominales (décoction avec la plante entière), l'énurésie nocturne et des problèmes rénaux (thé avec les feuilles), l'épilepsie (les fruits, les racines et les feuilles) et d'autres douleurs corporelles (décoction avec l'écorce) [381]. Le quatre-temps était

également utilisé en combinaison avec le *Diervilla lonicera* Mill ou le *Lonicera dioca* L. comme diurétique, ou avec le *Gaultheria procumbens* pour traiter le rhume. Dans une étude sur l'activité antibactérienne de plantes ornementales, un échantillon de *C. canadensis* lyophilisé a montré une activité contre les *Staphylococcus aureus* [321]. Également, le *C. officinalis* a montré une certaine efficacité à inhiber la protéase NS3 sérine du virus de l'hépatite C [299]. Des extraits méthanoliques d'autres espèces de *Cornus*, tel que *C. kousa* et *C. walteri*, ont été étudiés pour leur activité inhibitrice de la protéase du VIH-1 [329, 330]. Plus récemment, le laboratoire LASEVE a mis en lumière l'activité antiherpétique d'un extrait hydroalcoolique de *C. canadensis* [39].

Malgré cela, il existe très peu d'étude phytochimique sur le *C. canadensis*. La présence d'anthocyanes [275], de flavonoïdes [276] et d'iridoïdes [305] a été démontrée. Dans ce chapitre, les résultats obtenus suite au fractionnement guidé par les bioessais d'un extrait de *C. canadensis* sont présentés. Une étude temporelle du *C. canadensis* a aussi été réalisée en cueillant des plantes tout au long de la saison de croissance. Le rendement d'extraction, la composition et l'activité biologique des extraits produits à partir de ces différents lots sont rapportés.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1. Considérations générales

Les mesures de rotations spécifiques ont été réalisées à la raie D du sodium (589 nm) avec un polarimètre digital Jasco DIP-360. Les spectres RMN ont été enregistrés à 292 K avec un appareil Bruker Avance 400, à une fréquence de 400,13 MHz pour le ^1H et 100,61 MHz pour le ^{13}C . Une sonde de 5 mm de type QNP, munie d'une bobine de gradient en Z a été utilisée. Tous les spectres ont été effectués dans le méthanol- d_4 , à moins d'indications contraires, et les déplacements chimiques sont indiqués en ppm, relativement au TMS (0 ppm). À moins d'indications contraires, les analyses HPLC ont été réalisées sur un appareil Agilent 1100 (dégazeur G1322A, pompe quaternaire G1311A, échantillonneur G1313A, four à colonne G1316A, détecteur UV-DAD G1315B) avec une colonne Chromolith performance RP-18e (3×100 mm). Un appareil HPLC de Shimadzu (contrôleur CBM-20A, dégazeur DGU-20A, échantillonneur SIL-30AC, pompes LC-20AP, four à colonne CTO-20A, détecteur UV-DAD SPD-M20A et collecteur de fractions FRC-10A) a aussi été utilisé à quelques reprises. Pour l'isolement, des méthodes HPLC ont d'abord été développées sur l'appareil Agilent 1100 avec une colonne Zorbax Eclipse XDB-C18 ($4,6 \times 250$ mm, $5 \mu\text{m}$). Les méthodes ont ensuite été adaptées pour le mode semi-préparatif avec une colonne Zorbax PrepHT Eclipse XDB-C18 ($21,2 \times 250$ mm, $7 \mu\text{m}$) et un appareil Agilent 1100 (pompes préparatives G1361A, échantillonneur G2260A, détecteur à longueur d'onde variable G1314A, collecteur de fractions G1364B). Le dichlorométhane (CH_2Cl_2), le méthanol (MeOH), l'hexanes (Hex) et l'acétate d'éthyle (EtOAc), tous de grade "réactif", ont été achetés chez VWR International (Ville Mont-Royal, QC, Canada) et utilisés sans purification préalable. L'éthanol 95 % a été acheté chez Les Alcools de Commerce (Boucherville, QC, Canada). Les adsorbants utilisés pour la chromatographie sur colonne étaient le Diaion HP20 (VWR International, QC, Canada), le gel de silice Ultra Pure ($40\text{--}63 \mu\text{m}$, Silicycle, QC, Canada) et la silice en phase inverse C_{18} Ultra Pure (11 % de carbone, $40\text{--}63 \mu\text{m}$, Silicycle, QC, Canada). Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées avec des plaques de verre recouvertes de gel de silice 60 F_{254} ($250 \mu\text{m}$ d'épaisseur, Silicycle, QC, Canada). Les CCM en phase inverse ont été effectuées avec des plaques de verres recouvertes de gel de silice en phase inverse C_{18} $\text{F}_{254\text{s}}$ (Merck). Les taches ont été révélées en pulvérisant une solution de H_2SO_4 5 % dans le MeOH suivie par une solution de vanilline 1 % dans l'éthanol (EtOH) puis en chauffant les plaques à 110°C pendant 5 min. Les taches étaient visibles sous une lumière normale.

2.2. Matériel végétal

Des plants de *Cornus canadensis* ont été récoltés au Québec, aux environs du mont Valin (48°42' N 70°49' W, altitude 862 m), en juillet 2011 puis en août pour les fruits. Une deuxième collecte a eu lieu en juin 2012 à la Forêt d'enseignement et de recherche Simoncouche (48°14' N 71°15' W, altitude 347 m). Les plantes ont été identifiées par M. Patrick Nadeau de l'Université du Québec à Chicoutimi. Un spécimen de plante a été déposé à l'Herbarium Louis-Marie de l'Université Laval, Québec, Canada (QFA0610437). Le premier lot de plantes (juillet-août 2011), décortiqué en différentes parties (feuille, tige, fleur, racine et fruit), a été séché à température de la pièce pendant 1 semaine. Le deuxième lot, séché dans les mêmes conditions, n'a pas été décortiqué. Tout le matériel végétal a été broyé puis entreposé à -18 °C.

2.3. Fractionnement guidé par les bioessais, isolement et identification des composés actifs

2.3.1 Extraction du matériel végétal

Chaque partie du premier lot de *Cornus canadensis* (feuilles, tiges, fleurs, racines et fruits) a été extraite à petite échelle (1 g) avec EtOH aq. 50 % (16 ml). Après filtration, le résidu a été extrait deux autres fois avec 10 ml de solvant (EtOH aq. 50 %). Les solutions d'extractions ont été combinées et concentrées par évaporation sous vide. L'eau résiduelle a été éliminée par lyophilisation. Cinq extraits ont ainsi été obtenus et ont été testés pour leur activité antivirale : Feuille, Tige, Fleur, Racine et Fruit.

Un deuxième lot de *C. canadensis* (3594 g) a été extrait en suivant la même procédure (1 × 43 l, 2 × 29 l). Après évaporation de l'EtOH, la solution a été partitionnée avec le CHCl₃ (4 × 50 l). Les deux phases ont été séparées puis évaporées sous vide résultant en une pâte verte (CHCl₃, 28,5 g, 0,8 %) et une gomme brune (H₂O, 1098,7 g, 30,6 %). Une partie de cette gomme brune (550 g) a été suspendue dans l'eau (5 l) puis extraite avec du n-BuOH (3 × 2,5 l). Chacune des deux fractions a été évaporée sous vide résultant en deux fractions brunes, l'une aqueuse (514,4 g, 28,6 %), l'autre butanolique (35,6 g, 2,0 %). Toutes ces fractions (CHCl₃, H₂O, n-BuOH) ont été testées pour leur activité antivirale.

2.3.2 Fractionnement de la fraction n-BuOH¹⁷

La fraction n-BuOH (35 g) a été séparée par chromatographie sur colonne avec Diaion HP20 en utilisant comme éluant pour les fractions F1 (6,2 g) et F2 (4,6 g), 30 % à 50 % MeOH pour les fractions F3 (2,4 g) et F4 (8,8 g), 80 % MeOH pour la fraction F5 (6,9 g) et 100 % MeOH pour la fraction F6 (2,0 g). La fraction F4 a été séparée par chromatographie liquide à basse pression avec du gel de silice en utilisant comme éluant CH₂Cl₂/MeOH/H₂O (200:48:7 → 40:48:7) puis MeOH/AcOH 98:2. Les fractions obtenues, regroupées selon leur profil CCM, étaient : F4.1 (361 mg), F4.2 (548 mg), F4.3 (399 mg), F4.4 (1079 mg), F4.5 (2312 mg), F4.6 (1121 mg) et F4.7 (2207 mg). La fraction F5 a été séparée par chromatographie sur colonne avec du gel de silice en utilisant comme éluant CH₂Cl₂/MeOH (6:1 → 0:1). Dix fractions ont ainsi été obtenues : F5.1 (35 mg), F5.2 (66 mg), F5.3 (189 mg), F5.4 (388 mg), F5.5 (425 mg), F5.6 (1099 mg), F5.7 (1047 mg), F5.8 (433 mg), F5.9 (817 mg), F5.10 (2602 mg). La fraction F4.1 a été purifiée par HPLC semi-préparatif (H₂O/ACN, 9:1 → 7:3 en 30 min) pour produire les composés **43** (0,7 mg) et **1079** (4,2 mg). La fraction F4.4 a été purifiée par HPLC semi-préparatif (H₂O/ACN, 19:1 → 16:4 en 40 min) pour produire les composés **965** (3,5 mg), **966** (6,9 mg), **967** (12,6 mg), **976** (3,0 mg) et **1078** (1,7 mg). La fraction F4.5 a été purifiée par HPLC semi-préparatif (H₂O/ACN, 19:1 → 16:4 en 40 min) pour produire les composés **967** (4,9 mg), **970** (9,3 mg), **976** (5,0 mg) et **977** (1,1 mg). Pour obtenir de plus grande quantité, une séparation grossière a été effectuée avec la fraction F4.5 par HPLC préparatif (H₂O/ACN 9:1 → 8:2 en 40 min.). Six fractions ont ainsi été obtenues : F4.5.1 (88,6 mg), F4.5.2 (224,7 mg), F4.5.3 (245,0 mg), F4.5.4 (173,2 mg), F4.5.5 (164,1 mg) et F4.5.6 (66,9 mg). La fraction F4.5.3 a été purifiée par HPLC semi-préparatif (H₂O/ACN 19:1 → 17:3 en 40 min) pour obtenir les composés **259** (15,5 mg), **966** (7,6 mg) et **976** (39,2 mg). L'analyse RMN de la fraction F4.5.6 a révélé qu'elle contenait uniquement le composé **970** (66,9 mg). La fraction 5.3 a été purifiée par HPLC semi-préparatif (H₂O/ACN, 9:1 → 6:4 en 30 min) pour produire les composés **1079** (13,5 mg) et **1081** (3,3 mg). La fraction 5.4 a été analysée par HPLC analytique (H₂O/ACN/HCOOH, 950:50:1 → 800:200:1 en 20 min) et contenait seulement le composé **1080**. La fraction 5.5 a été purifiée par HPLC semi-préparatif (H₂O/ACN, 8:2 pour 5 min puis 8:2 → 7:3 en 20 min) pour produire un mélange inséparable de **1082** et **1083** (1,7 mg), ainsi que les composés purs **55** (2,0 mg), **1080** (2,1 mg) et **1084** (11,3 mg). Finalement, la fraction 5.6 a été purifiée par HPLC semi-préparatif (H₂O/ACN, 9:1 → 7:3

¹⁷ Un schéma de fractionnement est fourni à la figure 97.

en 30 min) pour produire les composés **43** (27,7 mg), **44** (1,3 mg), **49** (7,7 mg), **930** (3,0 mg), **1080** (2,5 mg) et **1084** (2,8 mg).

2.3.3 Caractérisation des composés isolés

Astragaline (3-*O*-β-D-glucopyranoside de kaempférol, **43**) : solide jaune amorphe ; $[\alpha]_D^{25} -36,3^\circ$ ($c = 0,43$, MeOH) ; RMN ^1H (CD_3OD) : 8,05 (2H, d, $J = 8,7$ Hz, H-2',6'), 6,88 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-3',5'), 6,39 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 6,19 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 5,26 (1H, d, $J = 7,2$ Hz, H-1''), 3,69 (1H, dd, $J = 11,9, 2,3$ Hz, H-6''a), 3,53 (1H, dd, $J = 12,0, 5,5$ Hz, H-6''b), 3,43 (1H, m, H-2''), 3,42 (1H, m, H-3''), 3,30 (1H, m, H-4''), 3,20 (1H, ddd, $J = 9,7, 5,5, 2,3$ Hz, H-5'') ; RMN ^{13}C (CD_3OD) : 179,53 (s, C-4), 166,21 (s, C-7), 163,11 (s, C-5), 161,61 (s, C-4'), 159,07 (s, C-2), 158,55 (s, C-9), 135,47 (s, C-3), 132,31 (d, C-2',6'), 122,82 (s, C-1'), 116,10 (d, C-3',5'), 105,71 (s, C-10), 104,09 (d, C-1''), 99,96 (d, C-6), 94,81 (d, C-8), 78,46 (d, C-5''), 78,07 (d, C-3''), 75,77 (d, C-2''), 71,38 (d, C-4''), 62,65 (t, C-6'').

Isoquercétine (3-*O*-β-D-glucopyranoside de quercétine, **44**) : solide jaune amorphe ; $[\alpha]_D^{25} -24,6^\circ$ ($c = 0,020$, MeOH) ; RMN ^1H (CD_3OD) : 7,71 (1H, d, $J = 2,2$ Hz, H-2'), 7,59 (1H, dd, $J = 8,4, 2,0$ Hz, H-6'), 6,86 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5'), 6,36 (1H, br s, H-8), 6,18 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-6), 5,23 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1''), 3,71 (1H, dd, $J = 11,9, 2,3$ Hz, H-6''a), 3,57 (1 H, dd, $J = 11,9, 5,2$ Hz, H-6''b), 3,47 (1H, t, $J = 8,2$ Hz, H-2''), 3,42 (1H, t, $J = 8,6$ Hz, H-3''), 3,34 (1H, m, H-4''), 3,21 (1H, m, H-5''). RMN ^{13}C (CD_3OD) : concentration trop faible.

Trifoline (3-*O*-β-D-galactopyranoside de kaempférol, **49**) : solide jaune amorphe ; $[\alpha]_D^{25} -32,4^\circ$ ($c = 0,11$, MeOH) ; RMN ^1H (CD_3OD) : 8,09 (2H, d, $J = 8,7$ Hz, H-2',6'), 6,88 (2H, d, $J = 8,7$ Hz, H-3',5'), 6,40 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-8), 6,20 (1H, d, $J = 1,9$ Hz, H-6), 5,14 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1''), 3,81 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-4''), 3,78 (1H, dd, $J = 9,6, 7,9$ Hz, H-2''), 3,62 (1H, dd, $J = 11,1, 6,1$ Hz, H-6''a), 3,52 (1H, m, H-3''), 3,51 (1H, m, H-6''b), 3,43 (1H, t, $J = 6,1$ Hz, H-5'') ; RMN ^{13}C (CD_3OD) : 166,40 (s, C-7), 163,10 (s, C-5), 161,65 (s, C-4'), 159,04 (s, C-2), 158,57 (s, C-9), 135,59 (s, C-3), 132,40 (d, C-2',6'), 122,73 (s, C-1'), 116,14 (d, C-3',5'), 105,61 (s, C-10), 105,00 (d, C-1''), 100,02 (d, C-6), 94,85 (d, C-8), 77,17 (d, C-5''), 75,07 (d, C-3''), 73,05 (d, C-2''), 70,05 (d, C-4''), 62,01 (t, C-6'').

Juglaline (3-*O*- α -L-arabinopyranoside de kaempférol, **55**) : solide jaune amorphe ; RMN ^1H (CD_3OD) : 8,06 (2H, d, $J = 8,6$ Hz, H-2',6'), 6,89 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-3',5'), 6,40 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 6,20 (1H, d, $J = 1,9$ Hz, H-6), 5,14 (1H, d, $J = 6,4$ Hz, H-1''), 3,89 (1H, dd, $J = 8,2, 6,3$ Hz, H-2''), 3,78 (1H, m, H-4''), 3,77 (1H, m, H-5''a), 3,63 (1H, m, H-3''), 3,40 (1H, dd, $J = 13,5, 3,1$ Hz, H-5''b) ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 179,58 (s, C-4), 166,42 (s, C-7), 163,11 (s, C-5), 161,68 (s, C-4'), 158,84 (s, C-2), 158,53 (s, C-9), 135,58 (s, C-3), 132,30 (d, C-2',6'), 122,66 (s, C-1'), 116,29 (d, C-3',5'), 105,60 (s, C-10), 104,41 (d, C-1''), 100,04 (d, C-6), 94,86 (d, C-8), 74,04 (d, C-3''), 72,80 (d, C-2''), 68,97 (d, C-4''), 66,78 (t, C-5'').

Acide caféique (**259**) : solide incolore amorphe ; RMN ^1H (CD_3OD) : 7,59 (1H, d, $J = 15,9$ Hz, H-7), 7,05 (1H, d, $J = 2,0$, H-2), 6,95 (1H, dd, $J = 8,3, 2,0$ Hz, H-6), 6,77 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, H-5), 6,30 (1H, d, $J = 15,9$ Hz, H-8) ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 169,05 (s, C-9), 149,65 (s, C-4), 147,26 (d, C-7), 146,84 (s, C-3), 127,76 (s, C-1), 123,04 (d, C-6), 116,52 (d, C-5), 115,20 (d, C-2), 114,88 (d, C-8).

Reinutrine (3-*O*- β -xylopyranoside de quercétine, **930**) : solide brun amorphe ; ^1H NMR (CD_3OD) : 7,60 (1H, m, H-2'), 7,59 (1H, m, H-6'), 6,85 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-5'), 6,39 (1H, br s, H-8), 6,20 (1H, br s, H-6), 5,18 (1H, d, $J = 7,2$ Hz, H-1''), 3,78 (1H, dd, $J = 11,6, 5,2$ Hz, H-5''a), 3,51 (1H, m, H-2''), 3,50 (1H, m, H-4''), 3,39 (1H, t, $J = 8,6$ Hz, H-5''b), 3,09 (1H, dd, $J = 11,7, 9,6$ Hz, H-5''b). RMN ^{13}C (CD_3OD) : 166.6 (C-7), 163.1 (C-5), 159.8 (C-2), 158.5 (C-9), 149.9 (C-4'), 146.1 (C-3'), 135.4 (C-3), 123.3 (C-6'), 123.1 (C-1'), 117.2 (C-2'), 116.0 (C-5'), 106.3 (C-10), 105.5 (C-1''), 100.1 (C-6), 94.8 (C-8), 77.6 (C-3''), 75.3 (C-2''), 71.0 (C-4''), 67.3 (C-5'').

1,2,3-tri-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**965**) : solide brun amorphe ; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +33,3^\circ$ ($c = 0,04$, MeOH) ; ^1H NMR (CD_3OD) : 7,03 (2H, s, H-2,6^{III}), 7,02 (2H, s, H-2,6^I), 6,91 (2H, s, H-2,6^{II}), 6,05 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-1), 5,53 (1H, t, $J = 9,5$ Hz, H-3), 5,41 (1H, dd, $J = 9,9, 8,2$ Hz, H-2), 3,92 (1H, br d, $J = 12,9$ Hz, H-6a), 3,88 (1H, t, $J = 9,7$ Hz, H-4), 3,80 (1H, dd, $J = 12,2, 4,6$ Hz, H-6b), 3,69 (1H, m, H-5) ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 167,83 (s, C-7^{III}), 167,20 (s, C-7^{II}), 166,42 (s, C-7^I), 146,56 (s, C-4^I), 146,39 (s, C-4^{III}), 146,36 (s, C-4^{II}), 140,68 (s, C-3,5^I), 140,20 (s, C-3,5^{II}), 139,99 (s, C-3,5^{III}), 121,09 (s, C-1^{III}), 120,51 (s, C-1^{II}), 120,00 (s, C-1^I), 110,56 (d, C-2,6^I), 110,43 (d, C-2,6^{III}), 110,39 (d, C-2,6^{II}), 93,92 (d, C-1), 79,07 (d, C-5), 76,79 (d, C-3), 72,45 (d, C-2), 69,35 (d, C-4), 61,89 (t, C-6).

1,2,6-tri-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**966**) : solide brun amorphe ; $[\alpha]_D^{25} -80,7^\circ$ ($c = 0,09$, MeOH) ; ^1H NMR (CD_3OD) : 7,11 (2H, s, H-2,6^{VI}), 7,05 (2H, s, H-2,6^{II}), 7,01 (2H, s, H-2,6^I), 5,93 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-1), 5,22 (1H, t, $J = 9,0$ Hz, H-2), 4,57 (1H, br d, $J = 12,0$ Hz, H-6a), 4,47 (1H, dd, $J = 12,1$, 4,6 Hz, H-6b), 3,84 (1H, m, H-5), 3,83 (1H, m, H-3), 3,67 (1H, t, $J = 9,3$ Hz, H-4) ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 168,30 (s, C-7^{VI}), 167,62 (s, C-7^{II}), 166,54 (s, C-7^I), 146,54 (s, C-4^{VI}), 146,51 (s, C-4^I), 146,45 (s, C-4^{II}), 140,63 (s, C-3,5^I), 140,08 (s, C-3,5^{II}), 139,95 (s, C-3,5^{VI}), 121,30 (s, C-1^{VI}), 121,08 (s, C-1^{II}), 120,02 (s, C-1^I), 110,60 (d, C-2,6^I), 110,41 (d, C-2,6^{II}), 110,24 (d, C-2,6^{VI}), 94,15 (d, C-1), 76,65 (d, C-5), 76,00 (d, C-3), 74,31 (d, C-2), 71,40 (d, C-4), 64,26 (t, C-6).

1,2,3,6-tetra-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**967**) : solide brun amorphe ; $[\alpha]_D^{25} +37,4^\circ$ ($c = 0,18$, MeOH) ; ^1H NMR (CD_3OD) : 7,13 (2H, s, H-2,6^{VI}), 7,04 (2H, s, H-2,6^{III}), 7,03 (2H, s, H-2,6^I), 6,94 (2H, s, H-2,6^{II}), 6,11 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-1), 5,59 (1H, dd, $J = 9,6$, 9,0 Hz, H-3), 5,45 (1H, dd, $J = 9,9$, 8,3 Hz, H-2), 4,62 (1H, dd, $J = 12,4$, 1,9 Hz, H-6a), 4,53 (1H, dd, $J = 12,1$, 4,3 Hz, H-6b), 4,03 (1H, ddd, $J = 10,0$, 4,3, 1,9 Hz, H-5), 3,97 (1H, dd, $J = 9,7$, 8,8 Hz, H-4) ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 168,19 (s, C-7^{VI}), 167,74 (s, C-7^{III}), 167,20 (s, C-7^{II}), 166,34 (s, C-7^I), 146,54 (s, C-4^{VI}), 146,54 (s, C-4^I), 146,38 (s, C-4^{III}), 146,35 (s, C-4^{II}), 140,75 (s, C-3,5^I), 140,24 (s, C-3,5^{II}), 140,03 (s, C-3,5^{III}), 140,00 (s, C-3,5^{VI}), 121,23 (s, C-1^{VI}), 120,98 (s, C-1^{III}), 120,41 (s, C-1^{II}), 119,84 (s, C-1^I), 110,61 (d, C-2,6^I), 110,43 (d, C-2,6^{III}), 110,40 (d, C-2,6^{II}), 110,24 (d, C-2,6^{VI}), 93,93 (d, C-1), 76,65 (d, C-5), 76,49 (d, C-3), 72,39 (d, C-2), 69,66 (d, C-4), 64,00 (t, C-6).

1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**970**) : solide brun amorphe ; $[\alpha]_D^{25} +21,8^\circ$ ($c = 0,29$, MeOH) ; ^1H NMR (CD_3OD) : 7,12 (2H, s, H-2^{VI}), 7,06 (2H, s, H-2^I), 6,98 (2H, s, H-2^{IV}), 6,95 (2H, s, H-2^{II}), 6,90 (2H, s, H-2^{III}), 6,25 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-1), 5,92 (1H, t, $J = 9,7$ Hz, H-3), 5,63 (1H, t, $J = 9,7$ Hz, H-4), 5,59 (1H, dd, $J = 9,8$, 8,4 Hz, H-2), 4,52 (1H, br d, $J = 11,1$ Hz, H-6a), 4,42 (1H, m, H-5), 4,39 (1H, m, H-6b) ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 167,94 (C-7^{VI}), 167,31 (C-7^{III}), 167,03 (C-7^{II}), 166,93 (C-7^{IV}), 166,23 (C-7^I), 146,57 (C-3^I), 146,49 (C-3^{VI}), 146,46 (C-3^{IV}), 146,39 (C-3^{II}), 146,30 (C-3^{III}), 140,78 (C-4^I), 140,37 (C-4^{IV}), 140,32 (C-4^{II}), 140,14 (C-4^{III}), 140,02 (C-4^{VI}), 121,05 (C-1^{VI}), 120,37 (C-1^{III}), 120,25 (C-1^{II}), 120,21 (C-1^{IV}), 119,73 (C-1^I), 110,62 (C-2^I), 110,47 (C-2^{IV}), 110,41 (C-2^{II}), 110,38 (C-2^{III}), 110,34 (C-2^{VI}), 93,83 (C-1), 74,44 (C-5), 74,13 (C-3), 72,20 (C-2), 69,80 (C-4), 63,13 (C-6)

Tellimagrandine I (2,3-di-*O*-galloyl-4,6-hexahydroxydiphenoyl- β -D-glucopyranose, **976**) : solide brun amorphe ; $[\alpha]_D^{25} +70,5^\circ$ ($c = 0,16$, MeOH) ; ^1H NMR (CD_3OD) : anomère α (60 %) : 7,01

(2H, s, H-2,6^{II}), 6,92 (2H, s, H-2,6^{III}), 6,60 (1H, s, H-2^{VI}), 6,49 (1H, s, H-2^{IV}), 5,83 (1H, t, $J = 10,0$ Hz, H-3), 5,49 (1H, d, $J = 3,8$ Hz, H-1), 5,32 (1H, dd, $J = 12,7, 6,6$ Hz, H-6), 5,12 (1H, t, $J = 9,9$ Hz, H-4), 5,09 (1H, dd, $J = 9,4, 4,5$ Hz, H-2), 4,64 (1H, dd, $J = 10,1, 6,8$ Hz, H-5), 3,82 (1H, d, $J = 12,8$ Hz, H-6) ; anomère β (40 %) : 6,99 (2H, s, H-2,6^{II}), 6,89 (2H, s, H-2,6^{III}), 6,60 (1H, s, H-2^{VI}), 6,45 (1H, s, H-2^{IV}), 5,59 (1H, t, $J = 9,7$ Hz, H-3), 5,35 (1H, dd, $J = 12,8, 6,6$ Hz, H-6), 5,19 (1H, dd, $J = 9,6, 8,1$ Hz, H-2), 5,14 (1H, t, $J = 9,9$ Hz, H-4), 4,96 (1H, d, $J = 8,1$ Hz, H-1), 4,21 (1H, dd, $J = 9,8, 6,4$ Hz, H-5), 3,90 (1H, d, $J = 13,0$ Hz, H-6) ; ¹³C NMR (CD₃OD) : anomère α : 169,78 (s, C-7^{VI}), 169,32 (s, C-7^{IV}), 167,94 (s, C-7^{III}), 167,48 (s, C-7^{II}), 146,41 (s, C-4^{II}), 146,22 (s, C-4^{III}), 145,94 (s, C-4^{IV}), 145,87 (s, C-4^{VI}), 144,82 (2 \times , s, C-5^{IV} et C-5^{VI}), 140,16 (s, C-3,5^{II}), 139,93 (s, C-3,5^{III}), 137,62 (2 \times , s, C-3^{IV} et C-3^{VI}), 126,36 (s, C-1^{IV}), 125,96 (s, C-1^{VI}), 120,79 (s, C-1^{III}), 120,60 (s, C-1^{II}), 116,71 (s, C-6^{VI}), 116,42 (s, C-6^{IV}), 110,46 (d, C-2,6^{III}), 110,42 (d, C-2,6^{II}), 108,66 (d, C-2^{VI}), 108,26 (d, C-2^{IV}), 91,80 (d, C-1), 73,61 (d, C-2), 72,00 (d, C-3), 71,99 (d, C-4), 67,61 (d, C-5), 64,29 (t, C-6) ; anomère β : 169,68 (s, C-7^{VI}), 169,24 (s, C-7^{IV}), 167,70 (s, C-7^{III}), 167,12 (s, C-7^{II}), 146,38 (s, C-4^{II}), 146,19 (s, C-4^{III}), 145,93 (s, C-4^{IV}), 145,89 (s, C-4^{VI}), 144,82 (2 \times , s, C-5^{IV} et C-5^{VI}), 140,01 (s, C-3,5^{II}), 139,95 (s, C-3,5^{III}), 137,62 (2 \times , s, C-3^{IV} et C-3^{VI}), 126,32 (s, C-1^{IV}), 125,89 (s, C-1^{VI}), 120,93 (s, C-1^{III}), 120,59 (s, C-1^{II}), 116,66 (s, C-6^{VI}), 116,46 (s, C-6^{IV}), 110,48 (d, C-2,6^{III}), 110,37 (d, C-2,6^{II}), 108,62 (d, C-2^{VI}), 108,24 (d, C-2^{IV}), 97,12 (d, C-1), 74,82 (d, C-2), 74,33 (d, C-3), 71,69 (d, C-4), 71,59 (d, C-5), 64,22 (t, C-6).

Tellimagrandine II (1,2,3-tri-*O*-galloyl-4,6-hexahydroxydiphenoyl- β -D-glucopyranoside, **977**) : solide brunâtre amorphe ; $[\alpha]_D^{25} +32,1^\circ$ ($c = 0,08$, MeOH) ; ¹H NMR (CD₃OD) : 7,05 (2H, s, H-2,6^I), 6,95 (2H, s, H-2,6^{II}), 6,91 (2H, s, H-2,6^{III}), 6,61 (1H, s, H-2^{VI}), 6,48 (1H, s, H-2^{IV}), 6,11 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-1), 5,76 (1H, t, $J = 9,7$ Hz, H-3), 5,54 (1H, dd, $J = 9,3, 8,4$ Hz, H-2), 5,39 (1H, dd, $J = 13,3, 6,5$ Hz, H-6a), 5,23 (1H, t, $J = 9,9$ Hz, H-4), 4,43 (1H, dd, $J = 10,1, 6,4$ Hz, H-5), 3,92 (1H, d, $J = 13,3$ Hz, H-6b) ; ¹³C NMR (CD₃OD) : 169,59 (s, C-7^{VI}), 169,24 (s, C-7^{IV}), 167,57 (s, C-7^{III}), 166,92 (s, C-7^{II}), 166,19 (s, C-7^I), 146,62 (s, C-4^I), 146,43 (s, C-4^{II}), 146,27 (s, C-4^{III}), 145,86 (s, C-4^{IV}), 145,82 (s, C-4^{VI}), 145,17 (s, C-5^{IV}), 145,15 (s, C-5^{VI}), 140,82 (s, C-3,5^I), 140,33 (s, C-3,5^{II}), 140,11 (s, C-3,5^{III}), 137,80 (s, C-3^{IV}), 137,78 (s, C-3^{VI}), 126,24 (s, C-1^{IV}), 126,24 (s, C-1^{VI}), 120,45 (s, C-1^{III}), 120,32 (s, C-1^{II}), 119,74 (s, C-1^I), 116,87 (d, C-6^{VI}), 116,69 (d, C-6^{IV}), 110,61 (d, C-2,6^I), 110,53 (d, C-2,6^{III}), 110,41 (d, C-2,6^{II}), 108,59 (d, C-2^{VI}), 108,21 (d, C-2^{IV}), 94,2 (d, C-1), 74,07 (d, C-3), 73,64 (d, C-5), 72,47 (d, C-2), 71,28 (d, C-4), 63,73 (t, C-6).

1,6-di-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**1078**) : solide brunâtre amorphe ; ^1H NMR (CD_3OD) : 7.12 (2H, s, H-2,6^I), 7.07 (2H, s, H-2,6^{VI}), 5.68 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, H-1), 4.54 (1H, br d, $J = 12.0$ Hz, H-6a), 4.39 (1 H, dd, $J = 12.0, 4.9$ Hz, H-6b), 3.71 (1H, m, H-5), 3.51 (3H, m, H-2, H-3, H-4) ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 168,34 (s, C-7^{VI}), 167,03 (s, C-7^I), 146,56 (s, C-3,5^{VI}), 146,52 (s, C-3,5^I), 140,51 (s, C-4^I), 139,93 (s, C-4^{VI}), 121,31 (s, C-1^{VI}), 120,61 (s, C-1^I), 110,61 (d, C-2,6^I), 110,22 (d, C-2,6^{VI}), 95,98 (d, C-1), 78,07 (d, C-3), 76,51 (d, C-5), 74,14 (d, C-2), 71,23 (d, C-4), 64,47 (t, C-6).

Gallate d'éthyle (**1079**) : solide brunâtre amorphe ; ^1H NMR (CD_3OD) : 7,05 (2H, s, H-2,6), 4,27 (2H, q, $J = 7,1$ Hz, H-1'), 1,35 (3 H, t, $J = 7,1$ Hz, H-2') ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 168,58 (s, C-7), 146,50 (s, C-3,5), 139,71 (s, C-4), 121,77 (s, C-1), 110,00 (d, C-2,6), 61,71 (t, C-1'), 14,66 (q, C-2').

Juglanine (3-*O*- α -L-arabinofuranoside de kaempférol, **1080**) : solide jaune amorphe ; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -112,9^\circ$ ($c = 0,16$, MeOH) ; ^1H NMR (CD_3OD) : 7,96 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2',6'), 6,93 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-3',5'), 6,41 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-8), 6,21 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-6), 5,49 (1H, s, H-1''), 4,33 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, H-2''), 3,91 (1H, dd, $J = 5,2, 3,1$ Hz, H-3''), 3,80 (1H, dd, $J = 9,3, 4,7$ Hz, H-4''), 3,49 (2H, d, $J = 4,2$ Hz, H-5'') ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 179,95 (s, C-4), 166,04 (s, C-7), 163,12 (s, C-5), 161,60 (s, C-4'), 159,42 (s, C-2), 158,59 (s, C-9), 134,96 (s, C-3), 132,02 (d, C-2',6'), 122,80 (s, C-1'), 116,54 (d, C-3',5'), 109,65 (d, C-1''), 105,69 (s, C-10), 99,90 (d, C-6), 94,82 (d, C-8), 88,03 (d, C-4''), 83,39 (d, C-2''), 78,66 (d, C-3''), 62,55 (t, C-5'').

2-*O*- β -Glucopyranosyl-2,6-hydroxybenzoate de benzyle (**1081**) : huile jaunâtre ; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -14,8^\circ$ ($c = 0,047$, MeOH) ; ^1H NMR (CD_3OD) : 7,50 (2H, d, $J = 7,4$ Hz, H-2',6'), 7,38 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, H-3',5'), 7,32 (1H, t, $J = 7,1$ Hz, H-4'), 7,27 (1H, t, $J = 8,3$ Hz, H-4), 6,75 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-3), 6,59 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-5), 5,38 (2H, s, H-7'), 4,94 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, H-1''), 3,86 (1H, br d, $J = 12,2$ Hz, H-6''a), 3,66 (1H, dd, $J = 12,2, 5,7$ Hz, H-6''b), 3,43 (1H, m, H-5''), 3,39 (1H, m, H-2''), 3,39 (1H, m, H-3''), 3,34 (1 H, m, H-4'') ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 170,00 (s, C-7), 159,80 (s, C-6), 158,25 (s, C-2), 137,40 (s, C-1'), 134,04 (d, C-4), 129,55 (d, C-3',5'), 129,22 (2 \times , d, C-2',6', C-4'), 111,57 (d, C-5), 110,87 (s, C-1), 107,79 (d, C-3), 102,75 (d, C-1''), 78,34 (d, C-3''), 77,99 (d, C-5''), 74,93 (d, C-2''), 71,25 (d, C-4''), 68,19 (t, C-7'), 62,54 (t, C-6'').

Byzantionoside B (**1082**) : solide amorphe orange ; ^1H NMR (CD_3OD) : 5,81 (1H, s, H-4), 4,33 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,87 (1H, m, H-9), 3,86 (1H, m, H-6'a), 3,65 (1H, m, H-6'b), 3,35 (1H, m, H-3'), 3,26 (1H, m, H-4'), 3,26 (1H, m, H-5'), 3,14 (1H, dd, $J = 9,1, 7,8$ Hz, H-2'), 2,47 (1H, d, $J =$

17,4 Hz, H-2), 2,05 (3H, d, $J = 1,3$ Hz, H-13), 1,98 (1H, m, H-6), 1,97 (1H, m, H-2), 1,95 (1H, m, H-7), 1,63 (2H, m, H-8), 1,51 (1H, m, H-7), 1,19 (3H, d, $J = 6,2$ Hz, H-10), 1,10 (3H, s, H-12), 1,01 (3H, s, H-11) ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 202,48 (s, C-3), 170,17 (s, C-5), 125,41 (d, C-4), 102,15 (d, C-1'), 78,20 (d, C-3'), 77,93 (d, C-5'), 75,54 (d, C-9), 75,20 (d, C-2'), 71,88 (d, C-4'), 62,95 (t, C-6'), 52,43 (d, C-6), 48,12 (t, C-2), 37,84 (t, C-8), 37,36 (s, C-1), 29,10 (q, C-11), 27,56 (q, C-12), 26,87 (t, C-7), 25,01 (q, C-13), 19,91 (q, C-10).

Avicularine (3-*O*- α -arabinofuranoside de quercétine, **1083**) : solide amorphe orange ; ^1H NMR (CD_3OD) : 7,53 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-2'), 7,50 (1H, dd, $J = 8,3, 2,1$ Hz, H-6'), 6,91 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-5'), 6,40 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-8), 6,22 (1H, d, $J = 1,9$ Hz, H-6), 5,47 (1H, s, H-1''), 4,33 (1H, s, H-2''), 3,92 (1H, dd, $J = 5,2, 2,9$ Hz, H-3''), 3,86 (1H, m, H-4''), 3,50 (2H, m, H-5'') ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 180,02 (s, C-4), 166,20 (s, C-7), 163,12 (s, C-5), 159,38 (s, C-2), 158,62 (s, C-9), 149,90 (s, C-4'), 146,41 (s, C-3'), 134,94 (s, C-3), 123,13 (s, C-1'), 122,99 (d, C-6'), 116,86 (d, C-2'), 116,47 (d, C-5'), 109,55 (d, C-1''), 105,62 (s, C-10), 99,95 (d, C-6), 94,83 (d, C-8), 88,05 (d, C-4''), 83,35 (d, C-2''), 78,73 (d, C-3''), 62,57 (t, C-5'').

3-*O*- β -D-xylopyranoside de kaempférol (**1084**) : solide jaune amorphe ; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -63,8^\circ$ ($c = 0,18$, MeOH) ; ^1H NMR (CD_3OD) : 8,03 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-2',6'), 6,88 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-3',5'), 6,40 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-8), 6,20 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 5,19 (1H, d, $J = 7,2$ Hz, H-1''), 3,77 (1H, dd, $J = 11,5, 5,1$ Hz, H-5''a), 3,48 (1H, m, H-2''), 3,48 (1H, m, H-4''), 3,40 (1H, t, $J = 8,6$ Hz, H-3''), 3,11 (1H, dd, $J = 11,6, 9,6$ Hz, H-5''b) ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 179,4 (s, C-4), 166,1 (s, C-7), 163,0 (s, C-5), 161,6 (s, C-4'), 158,9 (s, C-2), 158,4 (s, C-9), 135,3 (s, C-3), 132,2 (d, C-2',6'), 122,6 (s, C-1'), 116,1 (d, C-3',5'), 105,6 (s, C-10), 104,6 (d, C-1''), 99,9 (d, C-6), 94,8 (d, C-8), 77,5 (d, C-3''), 75,3 (d, C-2''), 71,0 (d, C-4''), 67,2 (t, C-5'').

2.4. Activité antivirale¹⁸

2.4.1 Culture cellulaire et virale

Des cellules de reins du singe vert africain (Vero, ATCC CCL-81) ont été mises en culture dans le milieu minimum essentiel M199 (Microcell, RI, USA) contenant les sels d'Eagle et de la

¹⁸ Les tests d'activité biologique ont été réalisés par Isabelle Côté, Catherine Dussault et Karl Girard-Lalancette.

L-glutamine, auquel ont été ajoutés du sérum fœtal bovin (10 %, FBS, Hyclone, Logan, USA), de la pénicilline (100 I.U. ml⁻¹) et de la streptomycine (100 µg ml⁻¹) (Mediatech Cellgro, VA, USA). Les cellules ont été maintenues à 37 °C dans un environnement humidifié contenant 5 % de CO₂. Le milieu de maintenance était identique au milieu de culture, mais avec seulement 2 % de FBS. Un stock de virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1, ATCC VR-733), mis en culture dans des cellules Vero, était entreposé à -80 °C avant leurs utilisations.

2.4.2 Évaluation de l'activité antivirale sur plaque 24 puits

Le compte des plages de lyse a été effectué sur des cultures monocouches de cellules Vero dans des plaques 24 puits. Les cellules étaient infectées par le virus (30 pfu puit⁻¹) puis incubées 1 h à 37 °C avec une atmosphère contenant 5 % de CO₂. Les cellules ont par la suite été lavées avec du tampon phosphate salin (PBS) puis traitées avec une solution de recouvrement, elle-même constituée de milieu de maintenance, de méthylcellulose 1 % et de différentes concentrations de produits à tester en triplicata. Après 72 h d'incubation à 37 °C, les cellules ont été fixées avec du paraformaldéhyde 5 % puis colorées avec du violet de gentiane à 0,8 %. Le pourcentage d'inhibition de l'activité virale a été calculé en utilisant cette formule :

$$\frac{P_c - P_e}{P_c} \times 100$$

où P_c est le nombre de plage de lyse du contrôle (sans produit à tester) et P_e est le nombre de plage de lyse pour l'expérience (avec produit à tester). Dans certains cas, la concentration inhibant 50 % du nombre de plage de lyse (EC₅₀) a été calculée. Par contre, pour augmenter la rapidité du test, il est arrivé qu'une seule dose de l'échantillon à tester ait été ajoutée. Dans ce cas, l'EC₅₀ n'a pas été calculée.

2.4.3 Évaluation de l'activité antivirale sur plaque 96 puits

Des cellules Vero ont été mises en culture dans des plaques 96 puits puis infectées, ou pas, par le virus. Les plaques ont été incubées 1 h à 37 °C dans une atmosphère humidifiée contenant 5 % de CO₂. Les cellules ont par la suite été lavées avec du PBS puis traitée avec du milieu de maintenance dans lequel étaient dissouts, ou pas, les composés à tester ou un contrôle (acyclovir). Après 72 h d'incubation à 37 °C, la quantité de cellules encore vivantes a été estimée par le test de la réduction de la résazurine [356]. Pour ce test, une solution de résazurine (25 µg ml⁻¹ dans HBSS) a été ajoutée

dans chaque puits (150 µl). La fluorescence a été mesurée avec un fluorimètre automatique pour plaques (Fluoroskan Ascent F1, Labsystems) à des longueurs d'onde d'excitation et d'émission de 530 et 590 nm, respectivement. La fluorescence mesurée est proportionnelle à l'activité métabolique des cellules dans chaque puits. Le taux de survie des cellules a été calculé à partir de la fluorescence des puits expérimentaux comparée à celle des puits de contrôle. L'activité antivirale a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\%P_i = \frac{F_i - F_0}{F_{sv} - F_0} \times 100,$$

où %P_i est le pourcentage de protection à une concentration donnée, F_i est la fluorescence dans un puits contenant la substance, F₀ est la fluorescence dans un puits contenant seulement le virus et F_{sv} est la fluorescence dans un puits ne contenant aucun virus. La concentration inhibant 50 % de la prolifération virale a ensuite été calculée (EC₅₀). La toxicité des substances a aussi pu être déterminée durant ce test. Pour ce faire, une série de puits contenant des cellules Vero n'ont pas été infectées avec le virus. La toxicité a donc été calculée avec la formule suivante :

$$\%T_i = \frac{F_i - F_b}{F_0 - F_b} \times 100,$$

où %T_i est le pourcentage de survie cellulaire, F_i est la fluorescence dans un puits contenant la substance, F_b est la fluorescence dans un puits ne contenant que de la résazurine et F₀ est la fluorescence dans un puits ne contenant que des cellules. La concentration inhibant à 50 % la croissance des cellules a ensuite été calculée (IC₅₀).

2.4.4 Mode d'action

Les cellules et les virus ont été incubés avec de l'acyclovir ou des extraits à différentes étapes du cycle viral afin de déterminer le mode d'action [382] :

- A. Protection : les cellules ont été incubées avec les échantillons pendant 1 h avant l'inoculation avec le virus ;
- B. Absorption : les virus et les échantillons ont été mélangés juste avant d'être ajoutés aux cellules ;
- C. Réplication : Les échantillons ont été ajoutés au milieu après l'inoculation avec le virus ;

D. Direct : Les virus ont été traités avec les échantillons pendant 1 h avant d'être ajoutés aux cellules.

Cette méthodologie est schématisée à la figure 95 (p. 316).

2.5. Activité *in vivo*¹⁹

Des souris CD-1 mâles âgées de 7 semaines (Charles River, St-Constant) ont été séparées en six groupes :

- A) 5 souris : infection avec HSV-1 à 2×10^5 pfu par œil ; aucun traitement ;
- B) 7 souris : infection avec HSV-1 à 2×10^5 pfu par œil ; traitées avec le véhicule (EtOH 0,5 % dans le PBS)
- C) 6 souris : infection avec HSV-1 à 2×10^5 pfu par œil ; traitées avec l'extrait à $2,5 \text{ mg ml}^{-1}$;
- D) 6 souris : infection avec HSV-1 à 2×10^5 pfu par œil ; traitées avec l'extrait à 5 mg ml^{-1} ;
- E) 7 souris : infection avec HSV-1 à 2×10^5 pfu par œil ; traitées avec l'extrait à 10 mg ml^{-1} ;
- F) 2 souris : aucune injection.

Suite à une période d'acclimatation de 5 jours au cours de laquelle certaines souris sont décédées, les animaux ont été endormie avec une injection de kétamine (100 mg kg^{-1})-xylazine (10 mg kg^{-1}) diluée dans de la saline. Par la suite, les yeux ont été scarifiés avec la pointe d'une aiguille puis infectés avec $10 \text{ } \mu\text{l}$ œil⁻¹ d'inoculum de HSV-1 (souche KOS, 2×10^5 pfu dans DMEM) ou avec du DMEM seulement pour le groupe F. Les groupes B à E ont reçu l'extrait en solution dans EtOH/PBS 1:199 à différentes concentrations ($2,5$ - 10 mg ml^{-1}) à 6, 12, 24, 36, 48 et 60 heures post-infection (hpi). À chaque fois, les souris ont d'abord été endormies avec de l'isoflurane par inhalation, puis $10 \text{ } \mu\text{l}$ de solution test ont été déposés dans chaque œil.

Pour évaluer la réplication aiguë du virus dans l'œil à 48 hpi (2 jpi), les larmes ont été récoltées, juste avant l'application d'une nouvelle dose d'extrait, en frottant les yeux à l'aide d'un coton-tige stérile et imbibé de milieu de culture. Les larmes de chaque œil ont été prélevées de façon indépendante puis rassemblées avant le titrage.

¹⁹ L'évaluation de l'activité *in vivo* a été réalisée par Annie Rochette et Angela Pearson, à l'INRS-Institut Armand-Frappier de l'Université du Québec.

La réplication aiguë du virus dans les ganglions trigéminaux, à 3 jpi, a été effectuée en prélevant les organes chez une (groupe F) ou trois souris par groupe (groupes A-E). Pour ce faire, les souris ont été euthanasiées par dislocation cervicale. La paire de ganglion a ensuite été prélevée sur chaque souris avant d'être homogénéisée puis rassemblée pour le titrage.

Finalement, une inspection visuelle de chaque souris a été réalisée afin de quantifier les signes cliniques. Pour cela, une échelle à 5 paliers a été utilisée :

0. pas de symptôme ;
1. présence de légère inflammation ;
2. inflammation légère à modérée et perte de poil légère ;
3. inflammation modérée à sévère et perte de poils modérée à sévère et/ou petites lésions ;
4. sévère inflammation avec perte de poils sévère et lésions sévères.

2.6. Étude temporelle

Environ 100 g de *Cornus canadensis* (CC) ont été récoltés à différents endroits et à différentes périodes de l'année. Les lieux de récoltes sont détaillés au tableau 47. Une fois cueillies, les plantes entières ont été traitées directement (E), ou préalablement décortiquées en partie aérienne (A) et en racine (R). Ensuite, les échantillons ont été extraits directement (F), ou mis à sécher à température ambiante pendant 4 jours (S). L'extraction a été réalisée avec 10 g de matériel végétal en suivant le même protocole qu'à la section 2.3.1 (p. 302). Les caractéristiques de chaque échantillon sont données au tableau 48.

Tableau 47 : Emplacement géographique des lieux de récolte

Code	Désignation	Coordonnée géographique
ALF	Anne-Lise Fortin	N 48°26'43" ; O 70°47'39"
WAR	Lac Warren	N 48°25'31" ; O 70°26'35"
RV	Rivière Valin	N 48°28'01" ; O 70°58'26"
CHI	Coopérative forestière de Chibougamau	N 49°54'47" ; O 74°18'38"
FB	Coopérative forestière Ferland-Boileau	N 48°07'14" ; O 70°50'12"
PRM	Parc Rivière-du-Moulin	N 48°23'48" ; O 71°02'43"
UQAC	Université du Québec à Chicoutimi	N 48°25'19" ; O 71°03'06"

Tableau 48 : Détails des échantillons de plantes récoltées

ID	Code	Date ^a	Lieu ^b	Partie ^c	Traitement ^d
1	SL06042A	25 mai	WAR	E	F
2	SL06042B	26 mai	RV	E	F
3	SL06047B	26 mai	RV	E	S
4	SL06049A	06 mai	ALF	E	F
5	SL06061A	10 juin	FB	E	F
6	SL06061B	13 juin	CHI	E	F
7	SL06064B	10 juin	FB	E	S
8	SL06064C	13 juin	CHI	E	S
9	SL06064D	23 juin	ALF	E	F
10	SL06065B	23 juin	ALF	E	S
11	SL06070B	08 juil.	ALF	E	F
12	SL06082A	08 juil.	ALF	E	S
13	SL06085C	17 juil.	PRM	E	F
14	SL06093A	22 juil.	ALF	A	F
15	SL06093B	22 juil.	ALF	R	F
16	SL06095A	06 mai	ALF	E	S
17	SL06095B	17 juil.	PRM	E	S
18	SL06100A	22 juil.	ALF	A	S
19	SL06100B	22 juil.	ALF	R	S
20	SL06122C	05 août	ALF	E	F
21	SL06127A	05 août	ALF	E	S
22	SL06140C	19 août	ALF	E	F
23	SL06142A	19 août	ALF	A	S
24	SL06142B	19 août	ALF	R	S
25	SL06169A	11 sept	ALF	A	S
26	SL06169B	11 sept	ALF	R	S
27	SL06178C	29 sept	ALF	A	F
28	SL06178D	29 sept	ALF	R	F
29	SL07010A	29 sept	ALF	A	S
30	SL07010B	29 sept	ALF	R	S

^a date de récolte en 2013 ; ^b Lieu de récolte, voir tableau 47 ; ^c Partie de la plante : entière (E), partie aérienne (A), racine (R) ; ^d Traitement avant extraction : frais (F), sec (S).

Les analyses HPLC des extraits ont été réalisées sur l'appareil Agilent 1100 avec une colonne Eclipse XDB-Phényl (4,6 × 250 mm, 5 µm). L'élution a été réalisée avec de l'eau (solvant A) et de l'acétonitrile (solvant B) : 5 % B $\xrightarrow{50 \text{ min}}$ 30 % B $\xrightarrow{1 \text{ min}}$ 100 % B (9 min). Les extraits, dilués dans le MeOH (10 mg ml⁻¹), ont été injectés (10 µl) puis détectés à 280 ± 2 nm. Les chromatogrammes ont ensuite été normalisés pour que l'aire sous la courbe entre 3,75 et 50 min soit égale pour chaque chromatogramme. Une analyse statistique par la méthode des composantes principales a été effectuée avec le logiciel Matlab (version R2012b).

3. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Extraction et isolement des composés bioactifs

Tout d'abord, un premier lot de *Cornus canadensis* a été récolté puis séparé selon ses différentes parties : les feuilles (Fe), les tiges (T), les fleurs (Fl), les racines (R) et les fruits (Fr). Après le séchage de ces parties à température ambiante pendant une semaine, les échantillons ont été pesés puis extraits à reflux avec une solution hydroalcoolique à 50 %. Les résultats au tableau 49 montrent des rendements entre 24-28 % pour tous les extraits sauf pour les racines qui ont donné un rendement plus faible (14,9 %). La plante est composée principalement de feuilles (76,4 %) et cette partie offre un rendement très intéressant (26,7 %). Les fruits, bien qu'offrant un bon rendement d'extraction (26,9 %), montrent l'activité antivirale la plus faible (22 %, 13 % et 37 % à 50 µg ml⁻¹, en mode absorption, réplication et direct, respectivement). Les feuilles et les racines, qui composent la majeure partie de la plante (87 % au total) montrent une bioactivité similaire en mode absorption et direct (51 % et 95 %, respectivement). Cependant, les feuilles ne montrent aucune activité antivirale en mode réplication à 50 µg ml⁻¹, mais l'inhibition à 100 µg ml⁻¹ est tout de même de 32 ± 12 %. Finalement, tous les extraits se sont avérés inactifs lorsque testés en mode protection.

Tableau 49 : Composition, rendement d'extraction et activité antivirale (24-puits) des parties de *C. canadensis*

Parties ^a	Quantité (%, poids sec)	Rendement d'extraction (%)	Cytotoxicité (IC ₅₀ en µg ml ⁻¹)		Inhibition du HSV-1 (% à 50 µg ml ⁻¹) ^b		
			WS1	Vero	absorption	réplication	direct
Fe	76,4	26,7	> 200	> 200	51 ± 1	-3 ± 2	95 ± 1
T	8,0	23,5	> 200	> 200	29 ± 9	10 ± 3	85 ± 5
Fl	4,3	28,4	> 200	> 200	32 ± 1	8 ± 6	77 ± 5
R	10,6	14,9	> 200	> 200	51 ± 2	28 ± 1	95 ± 2
Fr	0,8	26,9	> 200	> 200	22 ± 1	13 ± 5	37 ± 7

^a Les parties sont : Fe = Feuilles ; T = Tiges ; Fl = Fleurs ; R = Racine ; Fr = Fruits. ^b Le mode protection n'a pas été déterminé.

Lorsque les résultats sont mis en perspective avec les différents protocoles expérimentaux utilisés (figure 95), on constate que deux mécanismes d'action sont probablement en jeu : une action directe sur le virus et une inhibition de la réplication à l'intérieur de la cellule. D'abord, il apparaît que l'action directe sur le virus joue une part importante et que l'inhibition de l'absorption ne soit pas vraiment impliquée. En effet, dans le protocole "absorption", la substance testée est en contact avec les virus pendant 1 h, il est donc difficile de discriminer l'inhibition de l'absorption de l'action directe. Par

contre, dans le protocole "direct", la substance étudiée est en contact avec les virus plus longtemps, soit 2 h. Ce temps accru donne lieu à des activités supérieures pour le mode direct (tableau 49). Si l'inhibition de l'absorption était réellement impliquée, les activités seraient les mêmes puisque les substances étudiées sont en contact avec les récepteurs cellulaires pour une même période de temps dans les protocoles "absorption" et "direct", soit 1 h. D'autre part, un deuxième mode d'action impliquant l'inhibition de la réplication est possiblement en cause. En effet, dans ce protocole, la substance à étudier n'est jamais en contact direct avec les virus. Également, les virus peuvent pénétrer dans les cellules sans encombre puisque la substance étudiée est ajoutée après. Si seulement ce mode d'action était impliqué, la même bioactivité serait obtenue peu importe le protocole.

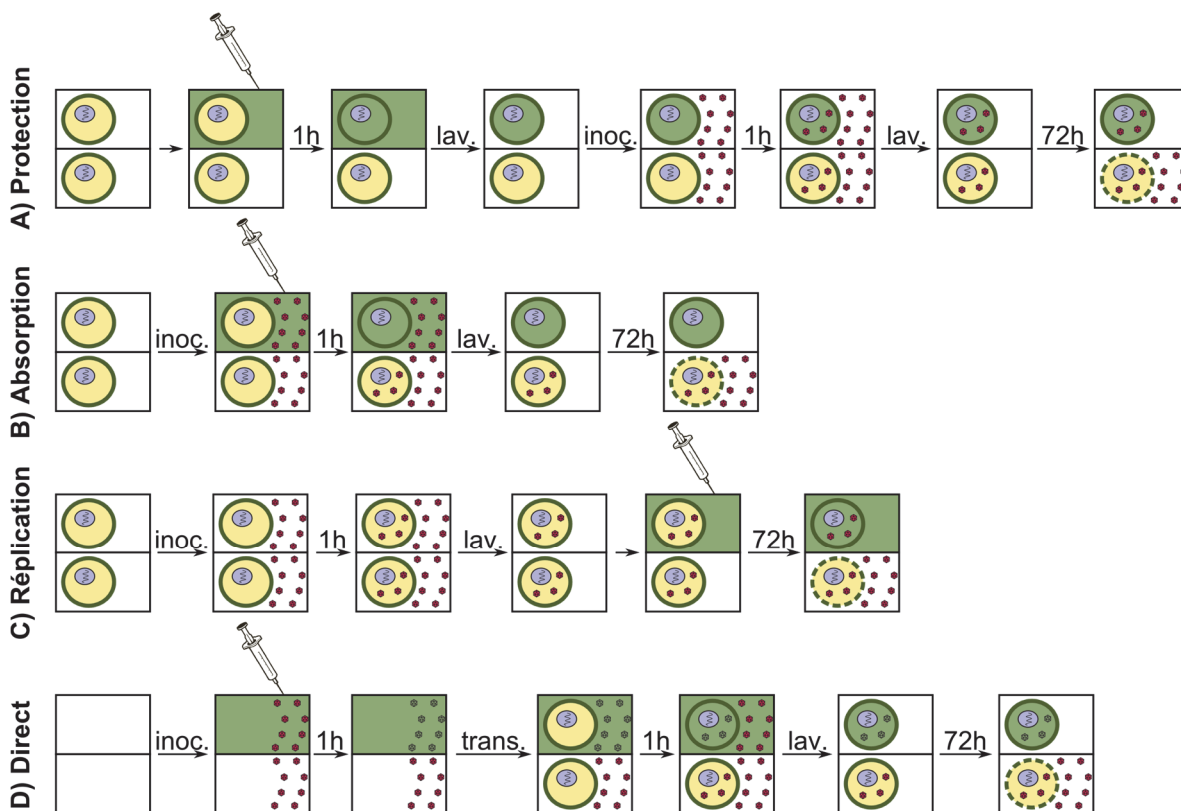


Figure 95 : Protocole expérimental pour déterminer le mode d'action d'un composé pour inhiber l'activité virale

Suite à cette première expérience, un deuxième lot de *C. canadensis* a donc été cueilli. Étant donné que 87 % de la biomasse offrait le même rendement et la même activité antivirale, il a été choisi de traiter les plantes en entier. Celles-ci ont été extraites en suivant le même protocole puis fractionnées par extraction liquide-liquide en utilisant l'eau (H_2O , 91,1 %), le n-butanol (n-BuOH,

6,3 %) et le chloroforme (CHCl_3 , 2,5 %). Les activités antivirales en mode absorption et direct des fractions obtenues ont ensuite été évaluées (figure 96). Étant donné que le test était réalisé en plaque 24 puits, et que le temps pris pour colorer les cellules était limité, il était difficile de traiter plus de 10 plaques à chaque expérience. Il a donc été convenu de tester les fractions à une seule dose et pour cette raison, les EC_{50} n'ont pu être évaluées. Également, l'activité antivirale en mode réplication n'a pas été évaluée étant donné la faible réponse des extraits par rapport à ce test.

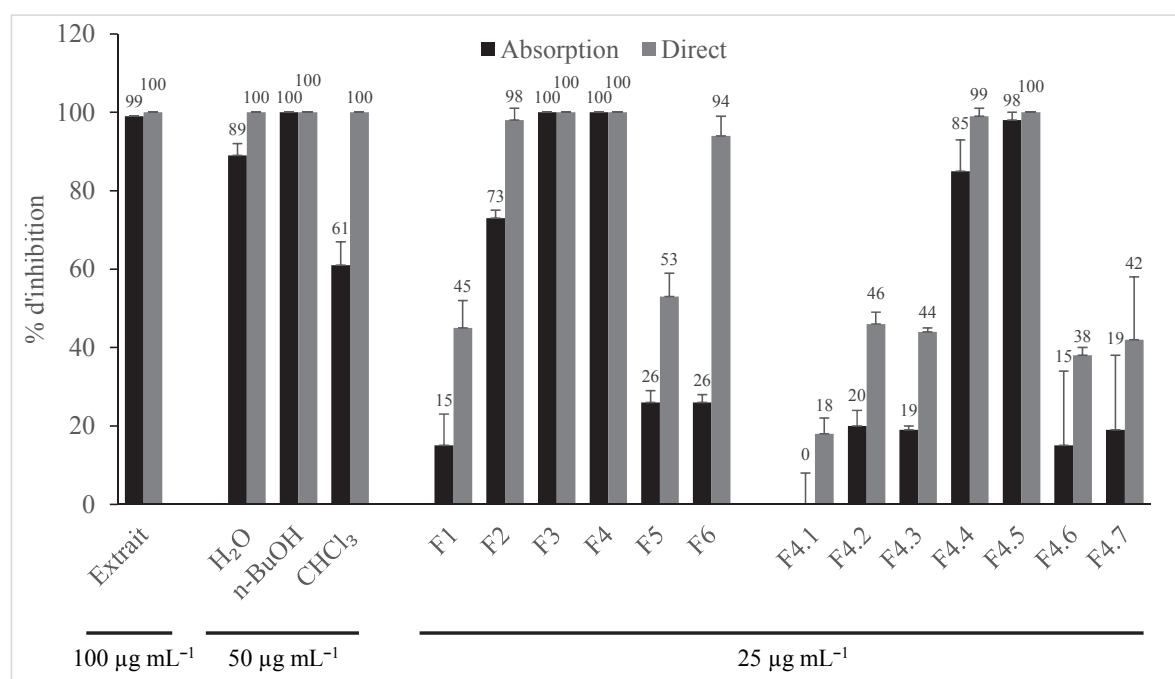
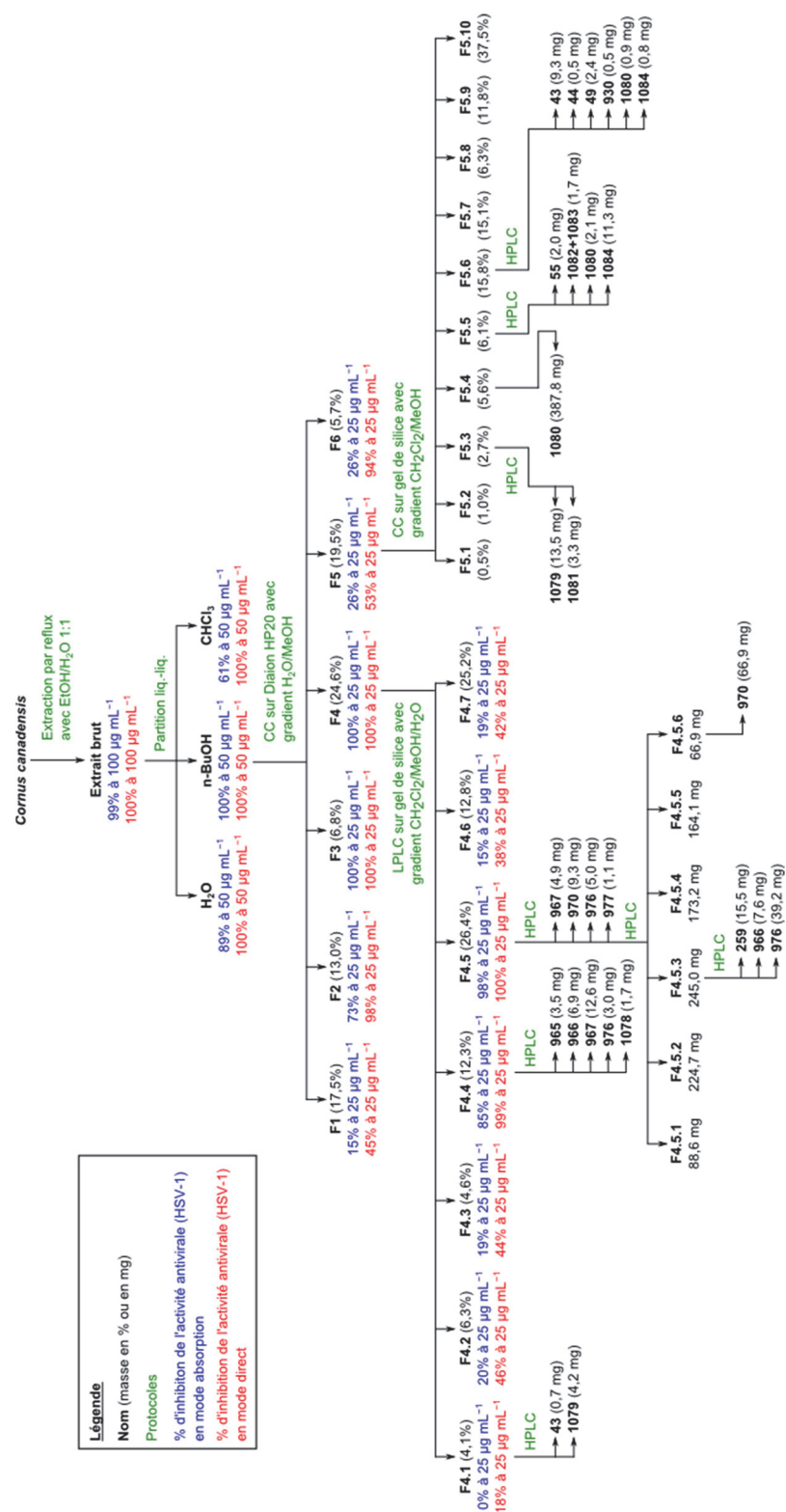


Figure 96 : Activité antivirale (HSV-1, 24-puits) de l'extrait ou des fractions de *C. canadensis* à 100, 50 ou 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$

La fraction n-BuOH présente une activité légèrement supérieure à celle obtenue avec H₂O, mais le rendement d'extraction est beaucoup plus faible. Des analyses de chromatographie sur couche mince (CCM) permettent de croire que la fraction n-BuOH contient une plus grande diversité de composés phénoliques que la fraction H₂O (figure 98). Sur les chromatogrammes HPLC, la fraction n-BuOH, préparée à la même concentration que la fraction H₂O, semble contenir une plus grande concentration de composés (figure 99). Ces résultats suggèrent la présence d'une quantité élevée de composés invisibles avec un détecteur UV, par exemple, des sucres, dans la fraction aqueuse. Pour cette raison, la fraction n-BuOH a été choisie pour la suite du fractionnement (figure 97).

Figure 97 : Fractionnement de l'extrait de *C. canadensis*

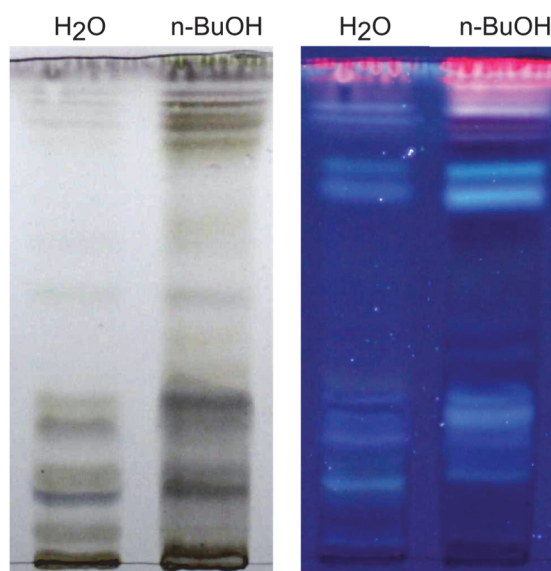


Figure 98 : CCM des fractions H₂O et n-BuOH

Conditions : CCM sur SiO₂ éluée avec CHCl₃/MeOH/H₂O 26:14:3 ; à gauche, révélée avec H₂SO₄ 20 %, lumière visible ; à droite, pas de révélation, lumière 365 nm.

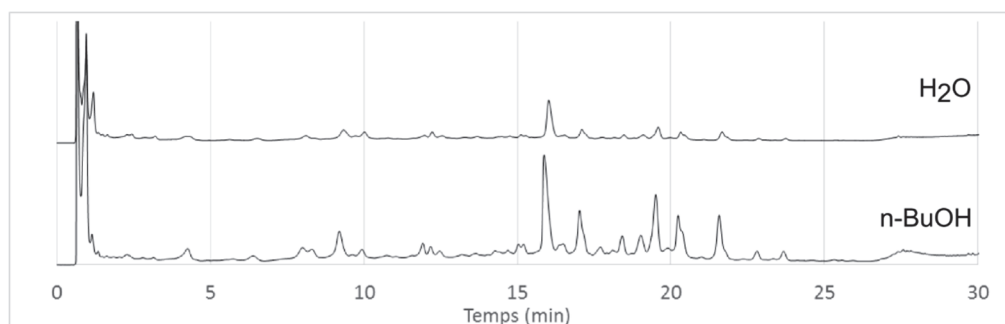


Figure 99 : HPLC des fractions H₂O et n-BuOH

Conditions : solvants A = H₂O + 0,1 % HCOOH et B = ACN + 0,1 % HCOOH ; 5 % B (5 min) $\xrightarrow{20 \text{ min}}$ 20 % B $\xrightarrow{5 \text{ min}}$ 90 % B (10 min), 1 ml min⁻¹, détection 254 ± 50 nm.

Une chromatographie sur colonne de la fraction n-BuOH avec comme phase stationnaire du Diaion HP20²⁰ et comme éluant un gradient d'eau et de méthanol a permis de produire six fractions. L'activité antivirale de chacune de ces fractions est montrée à la figure 96. Les fractions F3 et F4 montrent la plus forte activité avec 100 % d'inhibition en mode absorption et direct. Les fractions ont

²⁰ Le Diaion HP20 est un adsorbant constitué de polystyrène ramifié

aussi été analysées par CCM (figure 100) et par HPLC (figure 101). Tel qu'attendu, la séparation sur Diaion a permis d'éluer les composés les plus polaires en premier et les moins polaires en dernier.

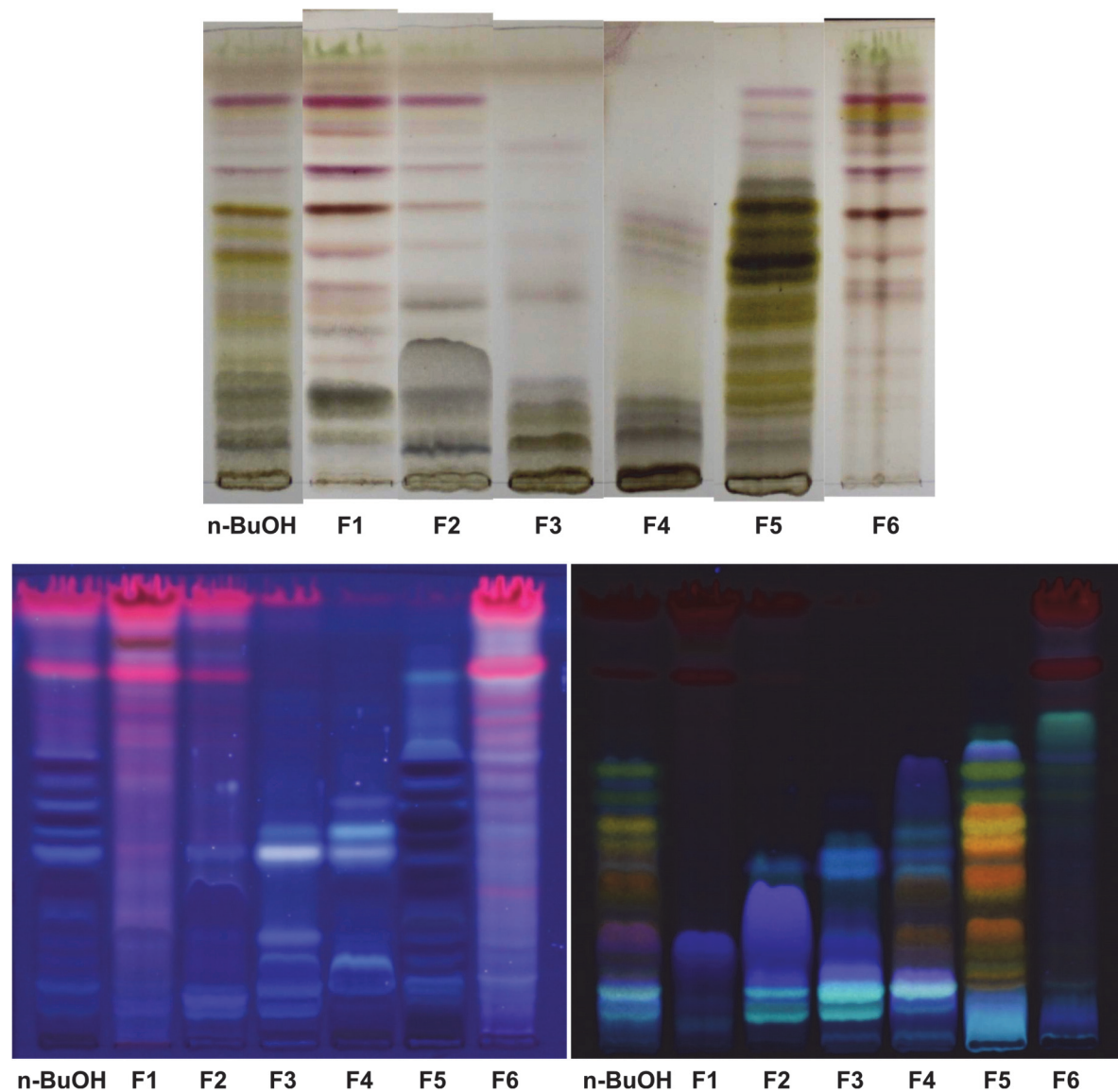


Figure 100 : CCM des fractions F1-F6

Conditions : CCM sur SiO_2 éluee avec $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 26:14:3 ; en haut, révélée avec H_2SO_4 20 %, lumière visible ; en bas à gauche, pas de révélation, lumière 365 nm ; en bas à droite, révélée avec NP-PEG, lumière 365 nm.

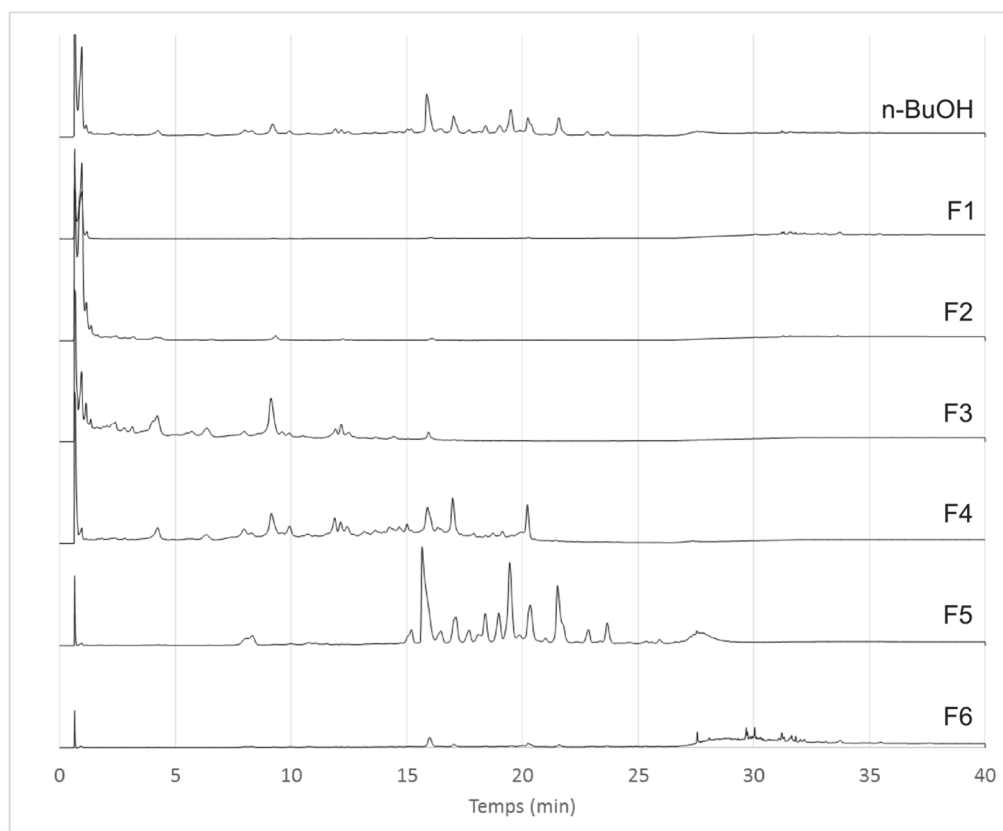


Figure 101 : HPLC des fractions F1-F6

Conditions : solvants A = H₂O + 0,1 % HCOOH et B = ACN + 0,1 % HCOOH ; 5 % B (5 min)
20 min $\xrightarrow{\quad}$ 20 % B $\xrightarrow{\quad 5 \text{ min}}$ 90 % B (10 min), 1 ml min⁻¹, détection 254 \pm 50 nm.

La fraction la plus abondante (F4) a été choisie pour l'étape suivante. Celle-ci a été séparée par chromatographie liquide à basse pression (LPLC) avec comme phase stationnaire, du gel de silice, et comme éluant, un gradient de CH₂Cl₂/MeOH/H₂O. Les sept fractions recueillies (F4.1 à F4.7), ont été testées pour leur activité antivirale (figure 96). Les fractions F4.4 et F4.5 ont montré les meilleures activités biologiques avec une inhibition en mode absorption de 85 et 98 %, respectivement. Les autres fractions se sont avérées beaucoup moins actives (< 20 % d'inhibition en mode absorption). Encore une fois, la présence de composés phénoliques en abondance (figure 103) semble corrélée positivement avec l'activité antivirale.

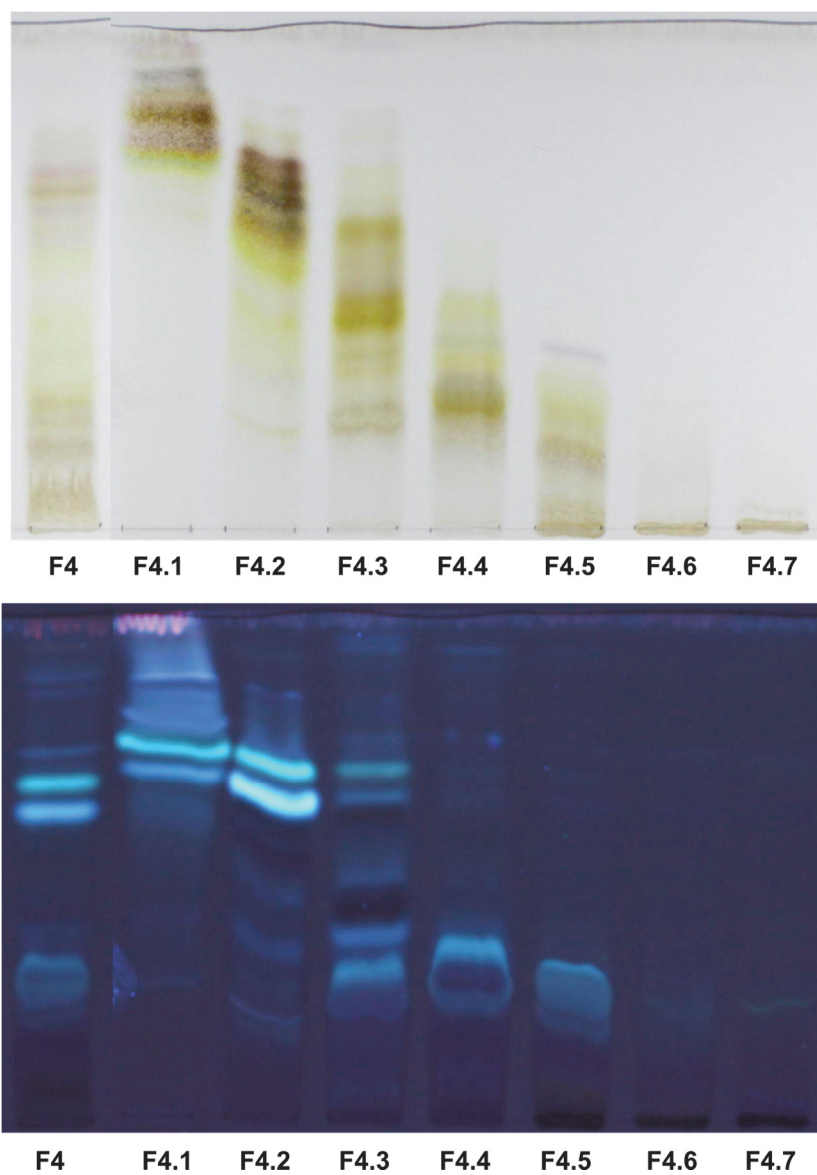


Figure 102 : CCM des fractions F4.1-F4.7

Conditions : CCM sur SiO_2 , éluées avec $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 26:14:3 ; en haut, révélée avec H_2SO_4 20 %, lumière visible ; en bas, pas de révélation, lumière 365 nm.

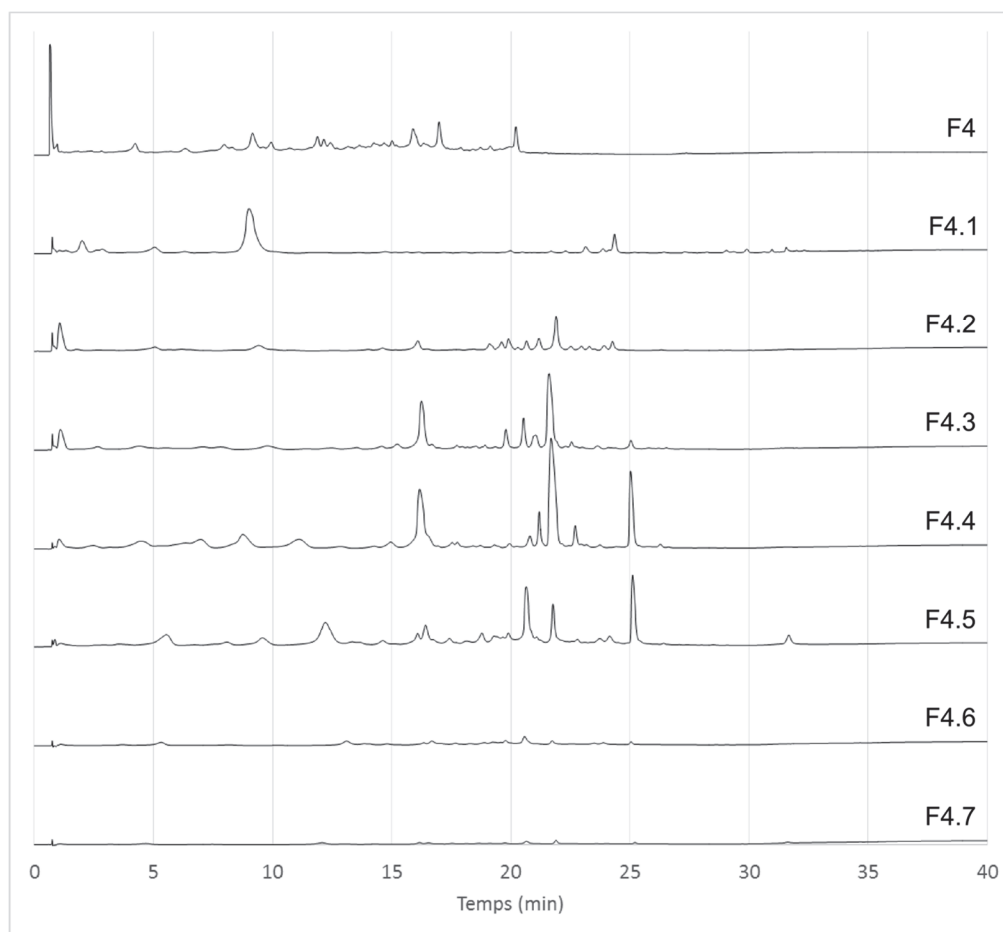


Figure 103 : HPLC des fractions F4.1-F4.7

Conditions : appareil Agilent 1100 pour fraction F4 et Shimadzu pour fractions F4.1-F4.7A ; solvants A = H₂O + 0,1 % HCOOH et B = ACN + 0,1 % HCOOH ; 5 % B (5 min) $\xrightarrow{20 \text{ min}}$ 20 % B $\xrightarrow{5 \text{ min}}$ 90 % B (10 min), 1 ml min⁻¹, détection 254 ± 50 nm.

Il est intéressant de remarquer qu'il ne semble pas y avoir de lien entre les CCM à 365 nm (figure 102) et les chromatogrammes HPLC à 254 nm (figure 103). Par exemple, la fraction F4.5 semble contenir moins de composés que la fraction F4.2 selon la CCM. Lorsque les chromatogrammes HPLC sont regardés, c'est la fraction F4.5 qui semble la plus concentrée. Il ne faut pas perdre de vue que les longueurs d'onde sont différentes. Ainsi, lorsque les chromatogrammes sont tracés à 365 nm²¹ (figure 104), on trouve une bien meilleure corrélation entre les deux techniques.

²¹ Cette opération est très simple à réaliser sur le chromatographe Shimadzu (voir section Matériels et Méthodes, p. 302). Sur le chromatographe Agilent, cette opération n'est pas impossible, mais elle demeure très complexe.

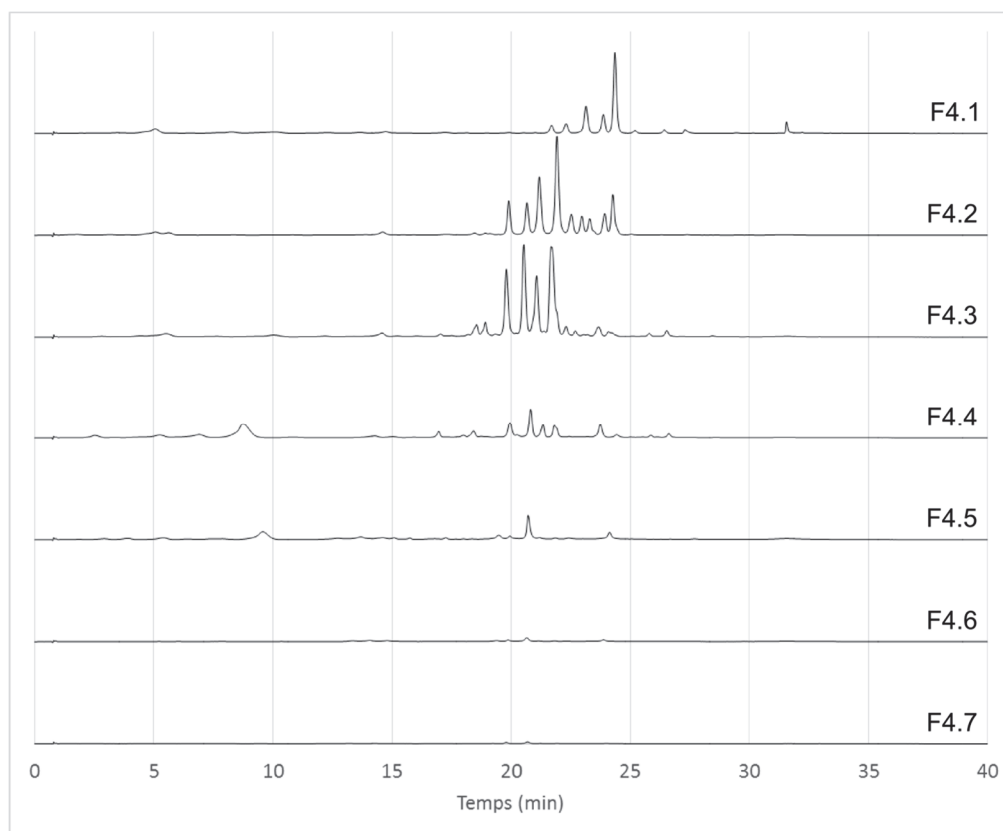


Figure 104 : HPLC des fractions F4.1-F4.7 à 365 nm

Conditions : solvants A = H₂O + 0,1 % HCOOH et B = ACN + 0,1 % HCOOH ; 5 % B (5 min) $\xrightarrow{20 \text{ min}}$ 20 % B $\xrightarrow{5 \text{ min}}$ 90 % B (10 min), 1 ml min⁻¹, détection 365 ± 1 nm.

La fraction F4.4, l'une des deux plus actives du groupe, a été purifiée par HPLC préparatif (figure 105). Les pics majoritaires ont été recueillis puis analysés par RMN (voir section suivante). Les composés identifiés sont, dans l'ordre d'élution, le 1,6-di-*O*-galloyl-β-D-glucopyranoside (**1078**), le 1,2,3-tri-*O*-galloyl-β-D-glucopyranoside (**965**), la tellimagrandine I (**976**), le 1,2,6-tri-*O*-galloyl-β-D-glucopyranoside (**966**), le 1,2,3,6-tétra-*O*-galloyl-β-D-glucopyranoside (**967**) et le 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl-β-D-glucopyranoside (**970**) (figure 106). On constate que les tannins hydrolysables qui contiennent le moins de groupe galloyle éluent plus rapidement que les tannins fortement galloylés. La seule exception à cette règle est la tellimagrandine I (**976**) qui, bien qu'elle possède quatre unités galloyle, éluée en même temps que les composés à trois unités galloyle. Cela peut être expliqué par la ramification des deux unités galloyle en position 4 et 6 qui change le comportement chromatographique. Ces molécules sont décrites pour la première fois dans le *C. canadensis*, et même dans le genre *Cornus* pour le composé **1078**.

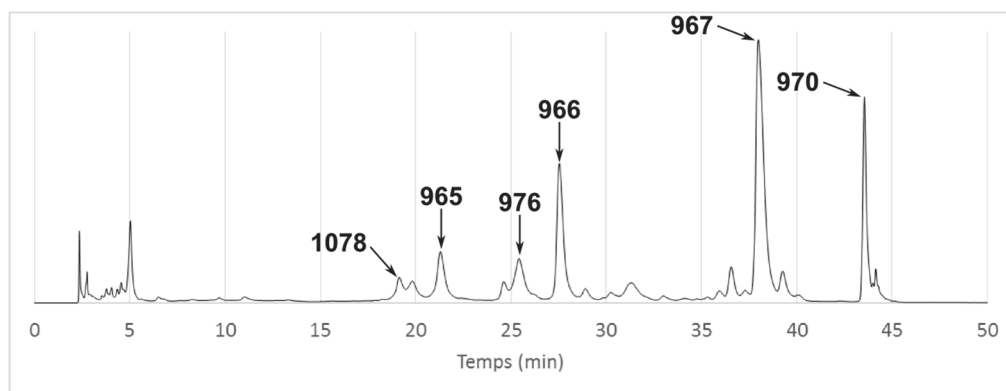


Figure 105 : HPLC préparatif de la fraction F4.4

Conditions : solvants A = H₂O et B = ACN ; 5 % B $\xrightarrow{40 \text{ min}}$ 20 % B $\xrightarrow{5 \text{ min}}$ 60 % B (10 min),
20 ml min⁻¹, détection 254 ± 50 nm.

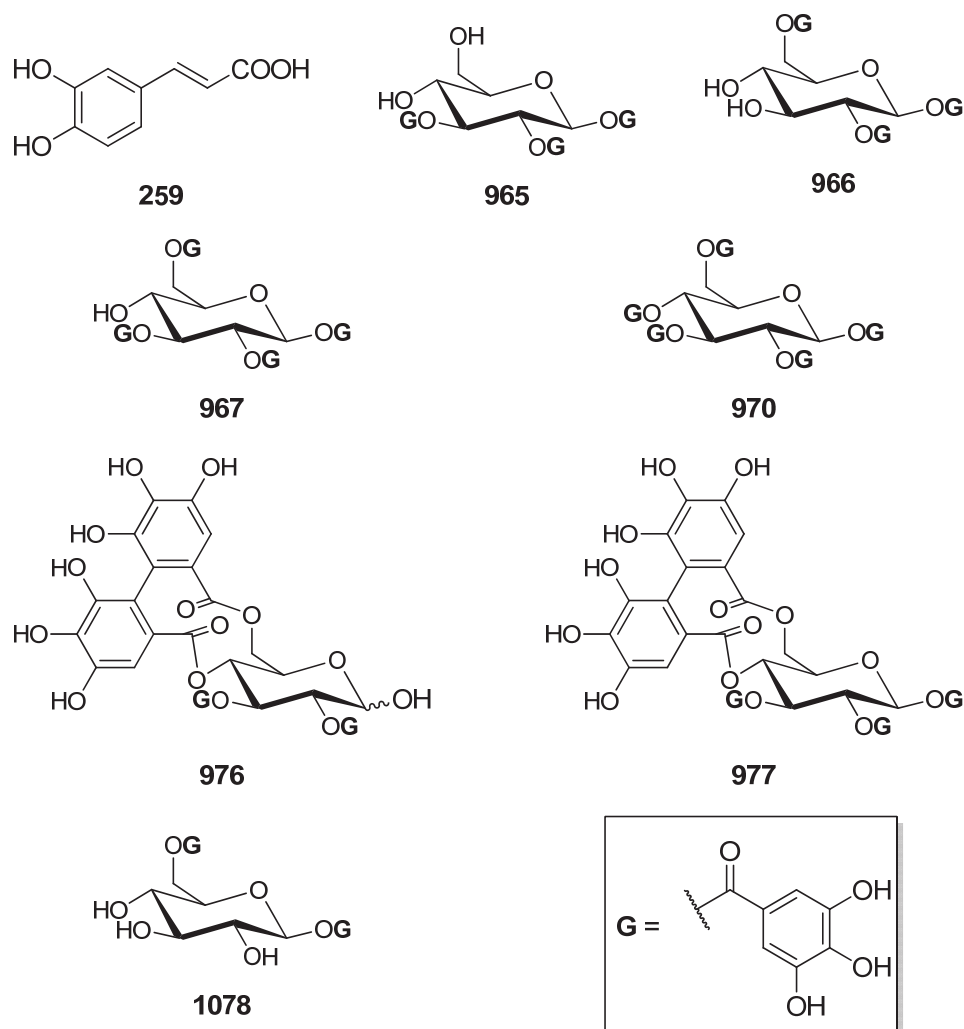


Figure 106 : Structure des composés isolés dans la fraction F4

La fraction F4.5, également très active, a elle aussi été purifiée par HPLC préparatif (figure 107). Cette fois, la tellimagrandine I (**976**), la tellimagrandine II (**977**), le 1,2,3,6-tétra-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**967**) et 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**970**) ont été identifiés (figure 106). Ici, la tellimagrandine II (**977**) s'ajoute à la liste des composés isolés jusqu'à maintenant, et comme les autres, elle est décrite pour la première fois dans le *C. canadensis*. La présence d'une cinquième unité galloyle retarde l'élution de ce dernier par rapport à la tellimagrandine I (**976**). Il faut aussi noter que les composés présents dans cette fraction sont pratiquement les mêmes que ceux isolés à partir de la fraction F4.4. Il aurait été probablement judicieux de combiner ces fractions lors de leur préparation.

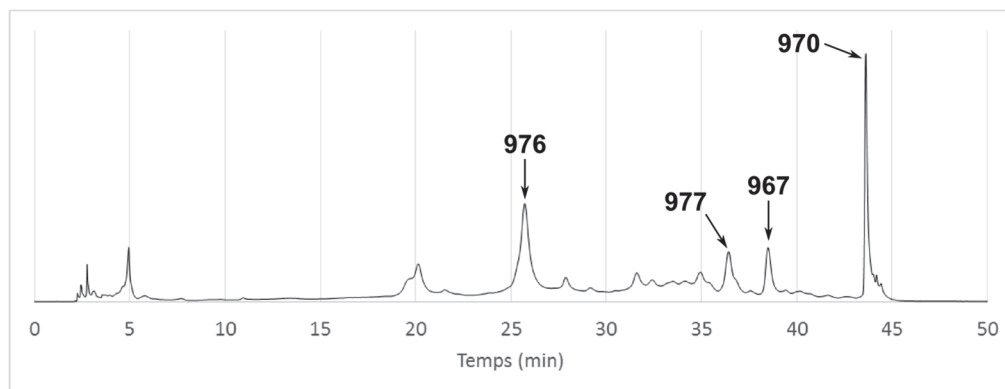


Figure 107 : HPLC préparatif de la fraction F4.5

Conditions : solvants A = H₂O et B = ACN ; 5 % B $\xrightarrow{40 \text{ min}}$ 20 % B $\xrightarrow{5 \text{ min}}$ 60 % B (10 min), 20 ml min⁻¹, détection 254 ± 50 nm.

Étant donné qu'une grande quantité de la fraction F4.5 était disponible, et que la séparation modeste par HPLC préparatif empêchait d'isoler plusieurs pics entre 27-35 min, il a été décidé de la fractionner grossièrement afin d'être en mesure de travailler indépendamment chaque zone. Ainsi, la même méthode a été utilisée mais en injectant de plus gros volume (figure 108). Les fractions obtenues par la suite ont été analysées par HPLC analytique. D'après ces résultats, les fractions F4.5.1 et F4.5.6 semblent pures. L'analyse RMN de ces fractions a confirmé en partie ces soupçons puisque le 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl-β-D-glucopyranoside (**970**) a été identifié (figure 106).

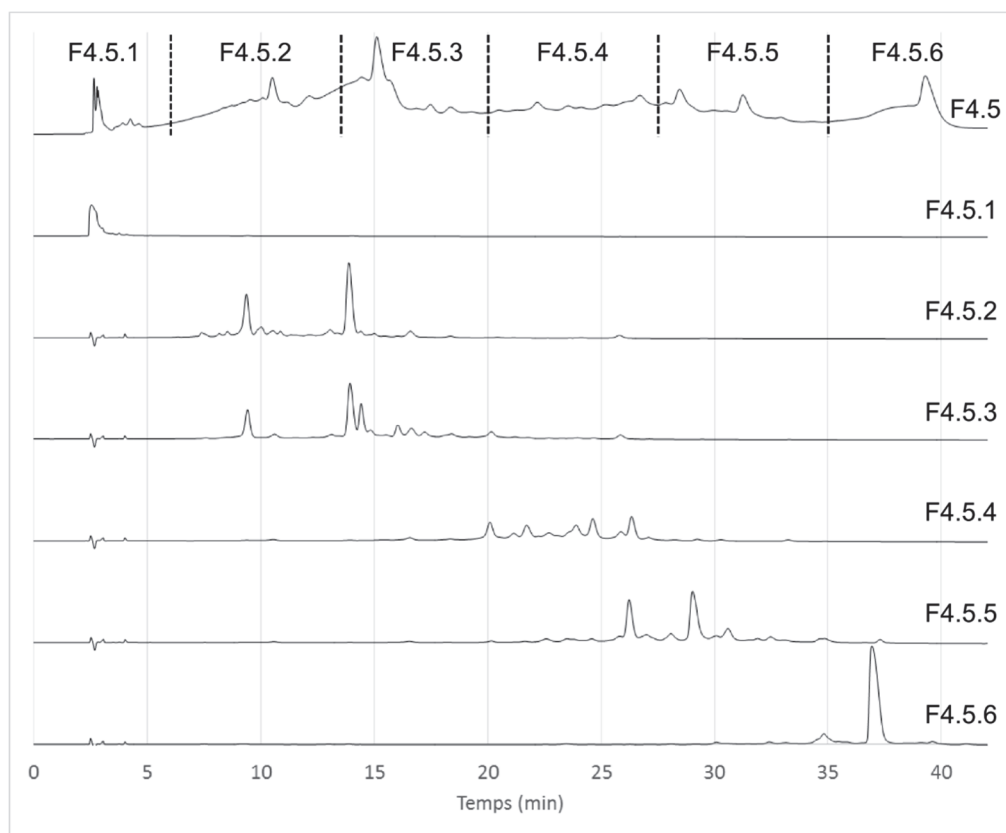


Figure 108 : HPLC préparatif de la fraction F4.5 et analyse HPLC des fractions F4.5.1 à F4.5.6

Conditions : en haut, solvants A = H₂O et B = ACN ; 10 % B $\xrightarrow{40 \text{ min}}$ 20 % B $\xrightarrow{5 \text{ min}}$ 60 % B (5 min), 20 ml min⁻¹, détection 254 ± 50 nm ; sur colonne Eclipse XDB-C18 ; solvants A = H₂O + 0,1 % HCOOH et B = ACN ; 10 % B $\xrightarrow{40 \text{ min}}$ 20 % B $\xrightarrow{5 \text{ min}}$ 60 % B (10 min), 1 ml min⁻¹, détection 254 ± 50 nm.

Par la suite, la fraction F4.5.3 a été purifiée par HPLC préparatif (figure 109). Malheureusement, seuls quatre pics étaient suffisamment purs pour être caractérisés par RMN. Ainsi, la tellimagrandine I (**976**) et le 1,2,6-tri-*O*-galloyl-β-D-glucopyranoside (**966**) ont été identifiés en plus de l'acide caféique (**259**), décrit pour la première fois dans le *C. canadensis* (figure 106). Ici, il fut très étonnant de trouver le même produit à deux endroits différents du chromatogramme. Pourtant, les spectres RMN des pics à 23,3 min et à 31,1 min correspondent bien aux spectres de la tellimagrandine I isolée à partir des fractions F4.4 et F4.5 (figure 110). Cette observation peut s'expliquer par le fait que la mutarotation du glucose, présent sur la molécule, s'effectue plus lentement que la durée de la chromatographie. Deux pics sont donc observés pour le α-tellimagrandine I et le β-tellimagrandine I. Par contre, au moment d'enregistrer les spectres RMN de ces échantillons, la mutarotation avait eu le

temps d'équilibrer les deux formes de sorte que des signaux sont visibles pour chacun. Dans les fractions F4.4 et F4.5, un seul des deux pics a été isolé, mais il est fort probable que l'autre anomère était aussi présent. Selon la disposition des composés **976** et **966** (figure 109 vs figure 105), il semble que l'autre anomère devrait se situer dans l'amas de signaux juste avant les 20 min.

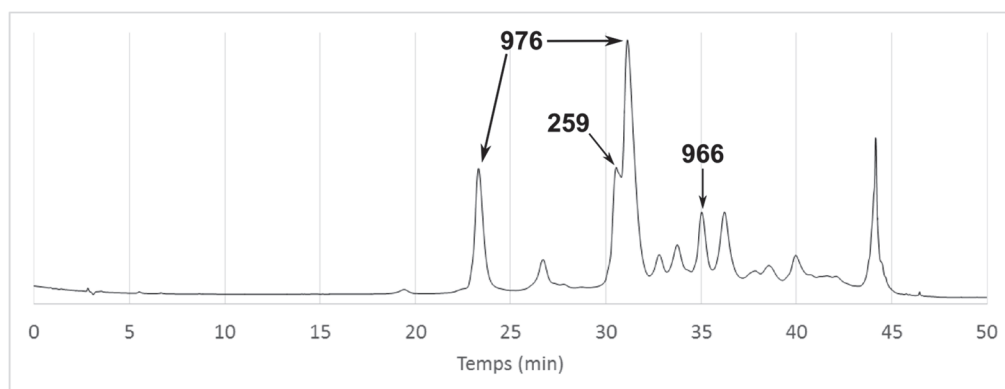


Figure 109 : HPLC préparatif de la fraction F4.5.3

Conditions : solvants A = H₂O + 0.1 % HCOOH et B = ACN ; 5 % B
 40 min → 15 % B → 5 min → 60 % B (5 min), 20 ml min⁻¹, détection 254 ± 50 nm.

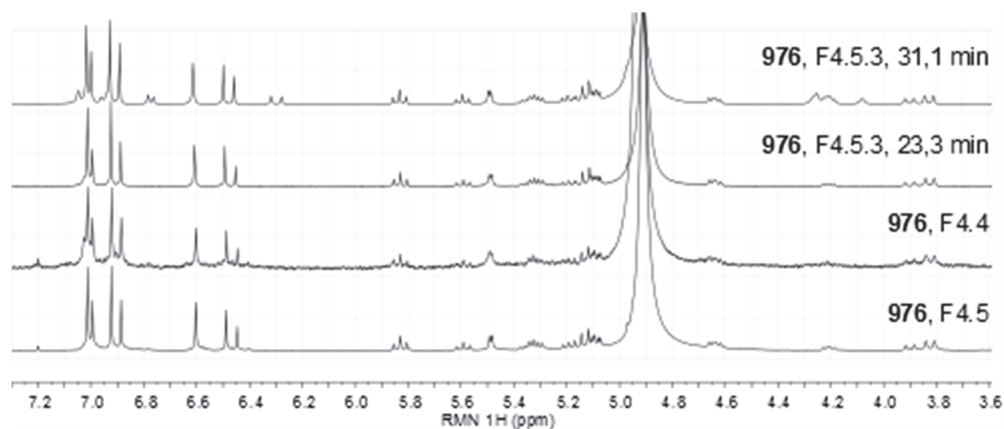


Figure 110 : Spectres RMN des différents échantillons de la tellimagrandine I (**976**)

3.2. Isolement de composés à partir de fractions inactives

D'autres fractions ont été obtenues au cours de ces travaux mais se sont avérées inactives pour l'inhibition de l'activité virale. Certaines d'entre elles ont été soumises à des purifications par HPLC et quelques autres composés ont été identifiés. C'est tout d'abord la fraction F4.1 qui a été étudiée (figure 111) pour trouver le gallate d'éthyle (**1079**) et l'astragaline (**43**) (figure 112). Le gallate d'éthyle

(1079), décrit pour la première fois dans le *C. canadensis*, est probablement un artéfact. Effectivement, comme l'extraction de la plante a été effectuée à reflux avec une solution contenant de l'éthanol, il est fort possible que ce dernier ait réagi avec une partie des tannins hydrolysables présents dans la plante.

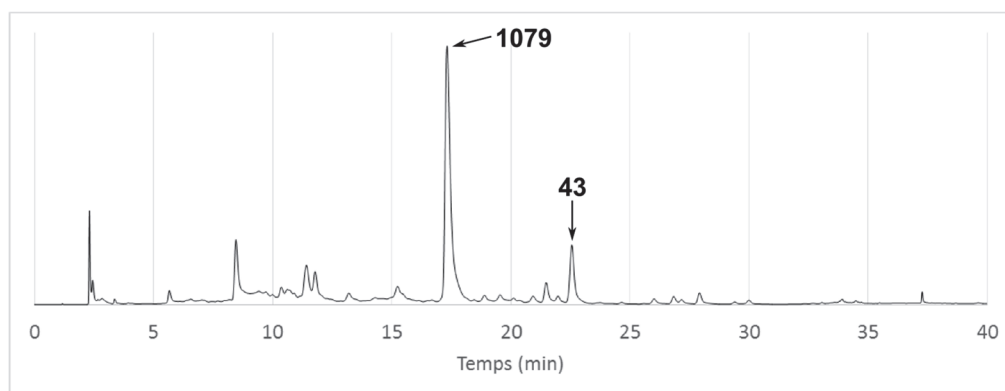


Figure 111 : HPLC préparatif de la fraction F4.1

Conditions : solvants A = H₂O et B = ACN ; 10 % B $\xrightarrow{30 \text{ min}}$ 30 % B $\xrightarrow{5 \text{ min}}$ 90 % B (5 min), 20 ml min⁻¹, détection 254 ± 50 nm.

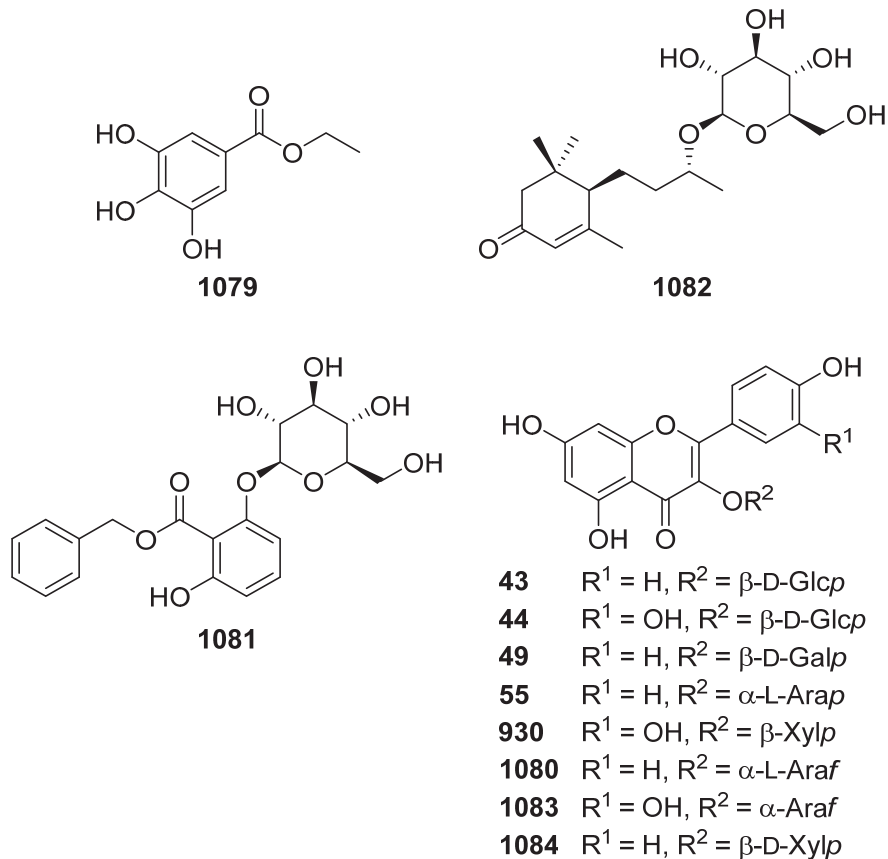


Figure 112 : Structures des composés isolés dans *C. canadensis*

La fraction F5, qui s'était elle aussi avérée peu active (figure 96), a fait l'objet d'une séparation par chromatographie sur SiO_2 pour générer dix fractions, F5.1 à F5.10. Celles-ci ont été analysées par CCM (figure 113) et par HPLC analytique (figure 114). La fraction F5.4 semblait chromatographiquement pure et c'est pourquoi elle a été analysée par RMN. Le juglanine (**1080**) a ainsi été identifié.

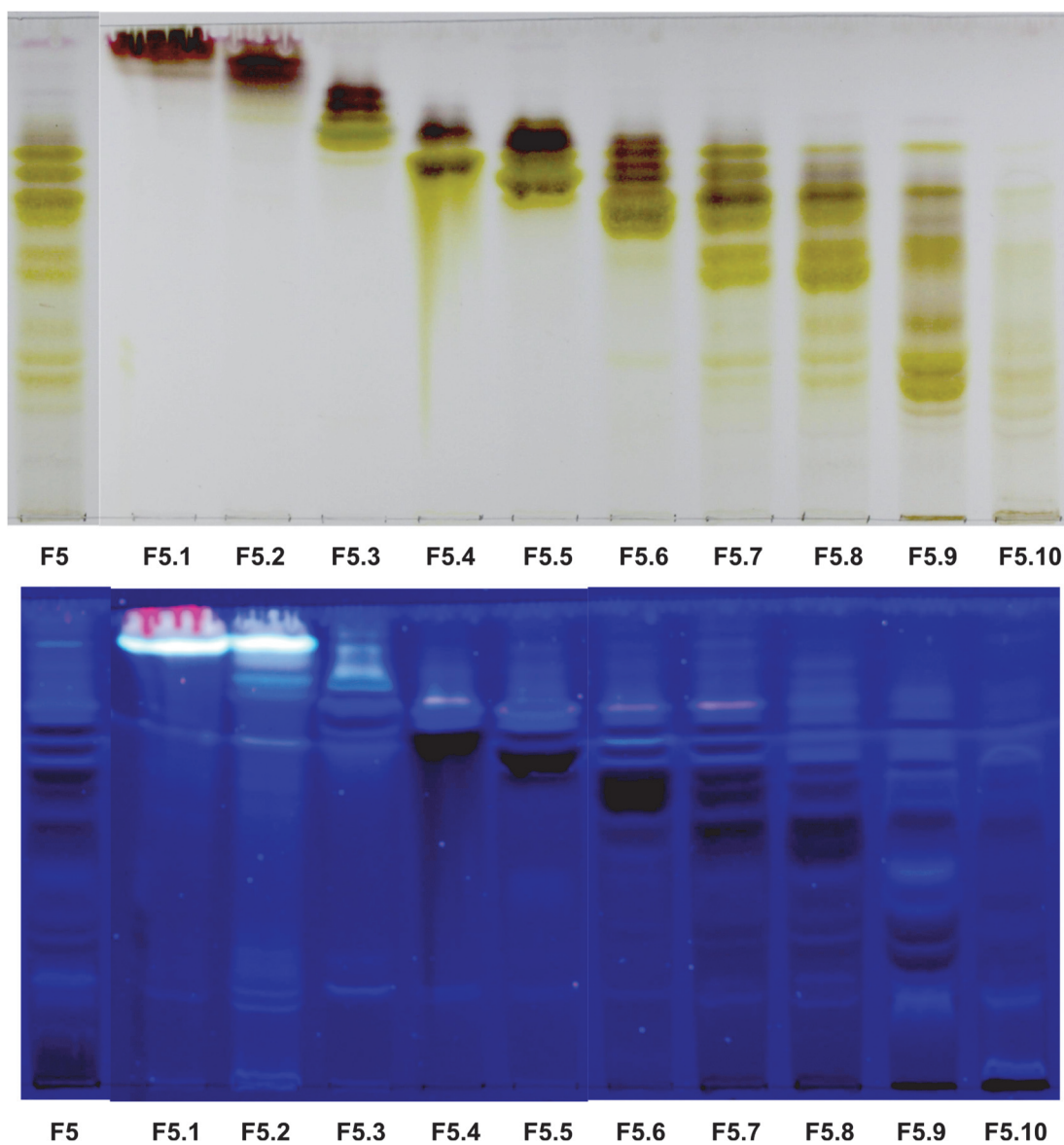


Figure 113 : CCM des fractions F5.1-F5.10

Conditions : CCM sur SiO_2 , éluées avec $CHCl_3/MeOH/H_2O$ 26:14:3 ; en haut, révélée avec H_2SO_4 20 %, lumière visible ; en bas, pas de révélation, lumière 365 nm.

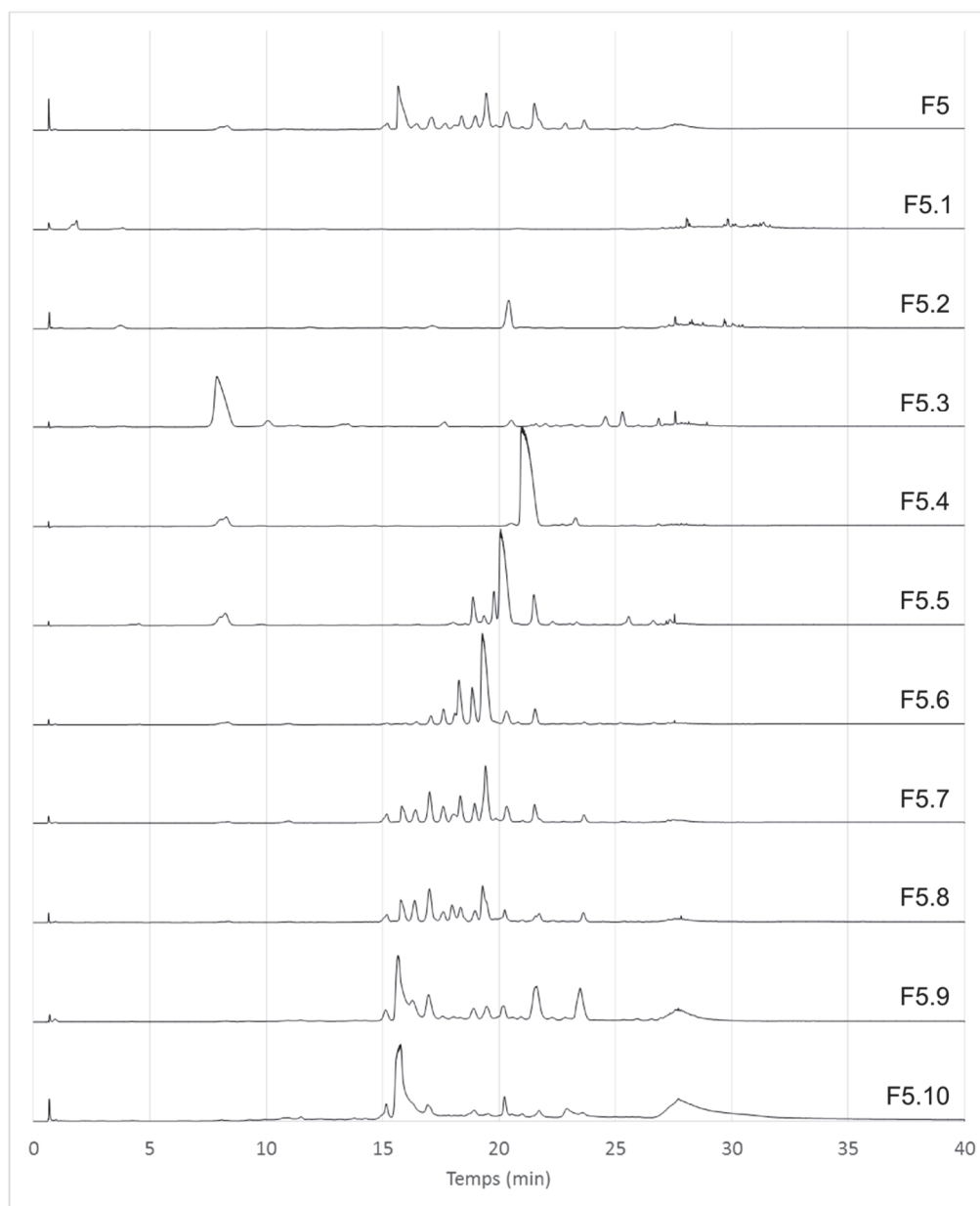


Figure 114 : Analyse HPLC des fractions F5.1-F5.10

Conditions : solvants A = H₂O + 0,1 % HCOOH et B = ACN + 0,1 % HCOOH ; 5 % B (5 min)
 $\xrightarrow{20 \text{ min}}$ 20 % B $\xrightarrow{5 \text{ min}}$ 90 % B (10 min), 1 ml min⁻¹, détection 254 ± 50 nm.

Les fractions 5.3, 5.5 et 5.6 ont ensuite fait l'objet de purifications par HPLC. Les chromatogrammes de chaque fraction sont montrés aux figures 115-117. Les produits qui ont été recueillis puis identifiés sont : le gallate d'éthyle (**1079**) et le 2-*O*-β-glucopyranosyl-2,6-hydroxybenzoate de benzyle (**1081**) pour la fraction F5.3 ; le byzantionoside B (**1082**), le juglaline

(55), le 3-O- β -D-xylopyranoside de kaempférol (1084) et le juglanine (1080) pour la fraction F5.5 ; l'isoquercétine (44), le reinutrine (930), le trifoline (49), l'astragaline (43), le 3-O- β -D-xylopyranoside de kaempférol (1084) et le juglanine (1080) pour la fraction 5.6.

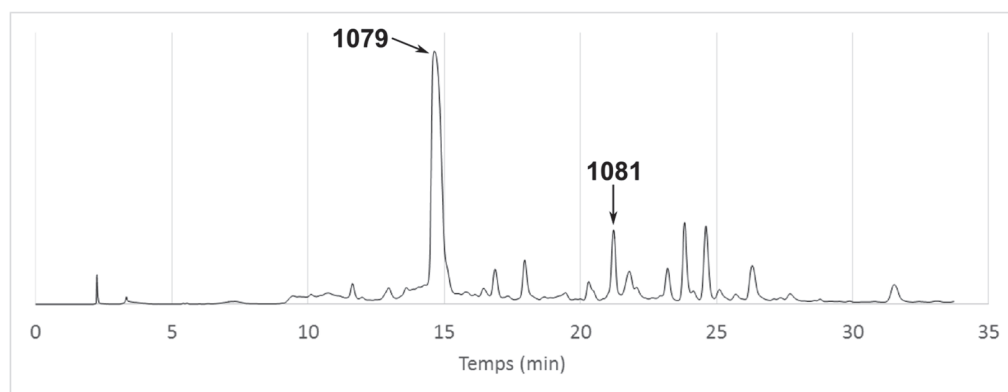


Figure 115 : HPLC préparatif de la fraction F5.3

Conditions : appareil Shimadzu ; solvants A = H₂O et B = ACN ; 10 %B $\xrightarrow{30 \text{ min}}$ 40 %B (10 min), 20 ml min⁻¹, détection 254 \pm 50 nm.

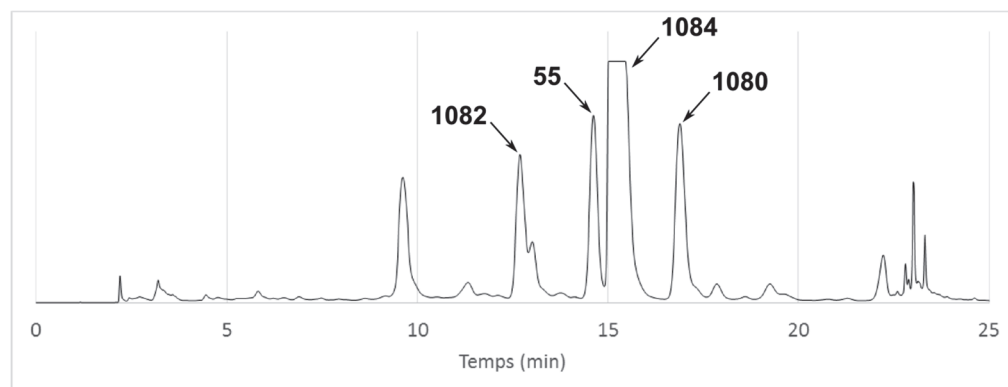


Figure 116 : HPLC préparatif de la fraction F5.5

Conditions : appareil Shimadzu ; solvants A = H₂O et B = ACN ; 20 %B (5 min) $\xrightarrow{20 \text{ min}}$ 30 %B $\xrightarrow{5 \text{ min}}$ 50 %B (10 min), 20 ml min⁻¹, détection 254 \pm 50 nm.

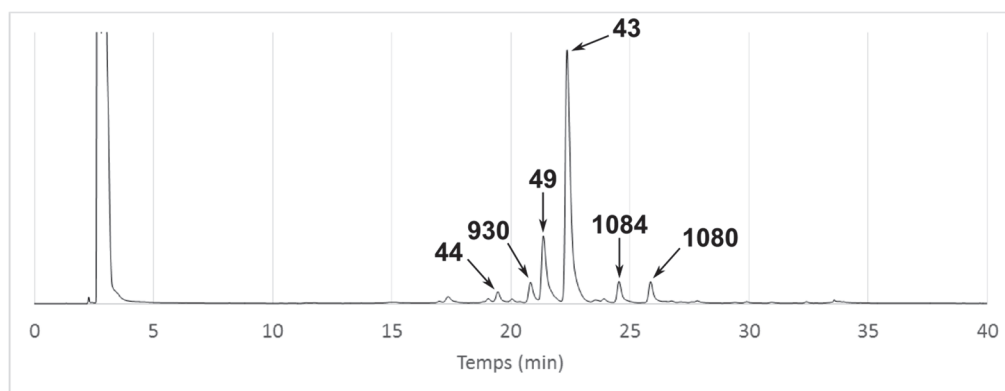


Figure 117 : HPLC préparatif de la fraction F5.6

Conditions : solvants A = H₂O et B = ACN ; 10 %B $\xrightarrow{30 \text{ min}}$ 30 %B (10 min), 20 ml min⁻¹, détection 254 ± 50 nm.

3.3. Identification des composés

L'identification des molécules a été réalisée par RMN. Ainsi, pour tous les composés isolés, des spectres ¹H, ¹³C, DEPT135, COSY, HSQC et HMBC ont été enregistrés. Dans certain cas, des spectres NOESY et HMBC avec excitation sélective d'une bande ont aussi été enregistrés. Pour les composés chiraux, des mesures de l'indice de rotation ont été réalisées. Dans tous les cas, des comparaisons avec les données de la littérature ont permis de valider la structure de chaque échantillon. Les données expérimentales se trouvent dans la section "Matériels et Méthodes" (p. 304-309) tandis que les données de la littérature sont reproduites dans les "Informations supplémentaires" (p. 375-408) en même temps que les spectres RMN ¹H et ¹³C enregistrés.

Plusieurs flavonoïdes glycosylés ont été isolés. Dans tous les cas, l'aglycone est le kaempférol (**43**, **49**, **55**, **1080** et **1084**) ou la quercétine (**44**, **930** et **1083**). Pour identifier le kaempférol, il faut repérer une paire de signaux de type AA'XX', situés en moyenne à δ_H 8,04 ± 0,05 (d, $J = 8,7 \pm 0,1$ Hz) et 6,89 ± 0,02 (d, $J = 8,7 \pm 0,2$ Hz), attribuable aux protons du cycle B (tableau 50, figure 118). Les autres signaux, visibles à δ_H 6,20 ± 0,01 (d, $J = 2,0 \pm 0,1$ Hz) et 6,40 ± 0,01 (d, $J = 2,1 \pm 0,1$ Hz), sont attribués aux positions 6 et 8 du cycle A.

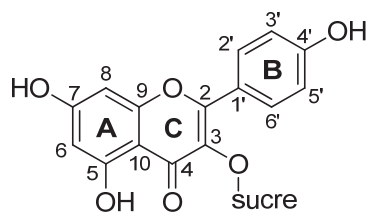


Figure 118 : Structures d'un glycoside de kaempférol

Tableau 50 : Données RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) pour les glycosides de kaempférol

Position	δ_{H} en ppm (mult., J en Hz)			
	43	49	55	1084
6	6,19 (d, 2,0)	6,20 (d, 1,9)	6,20 (d, 1,9)	6,21 (d, 2,1)
8	6,39 (d, 2,1)	6,40 (d, 2,1)	6,40 (d, 2,0)	6,41 (d, 2,1)
2',6'	8,05 (2H, d, 8,7)	8,09 (2H, d, 8,7)	8,06 (2H, d, 8,6)	7,96 (2H, d, 8,5)
3',5'	6,88 (2H, d, 8,8)	6,88 (2H, d, 8,7)	6,89 (2H, d, 8,5)	6,93 (2H, d, 8,5)
Sucre	Glc p	Gal p	Ara p	Xyl p
1"	5,26 (d, 7,2)	5,14 (d, 7,8)	5,14 (d, 6,4)	5,49 (s)
2"	3,43 (m)	3,78 (dd, 9,6, 7,9)	3,89 (dd, 8,6, 6,3)	4,33 (d, 3,0)
3"	3,42 (m)	3,52 (m)	3,63 (m)	3,91 (dd, 5,2, 3,1)
4"	3,30 (m)	3,81 (d, 3,5)	3,78 (m)	3,80 (dd, 9,3, 4,7)
5"	3,20 (ddd, 9,7, 5,5, 2,3)	3,43 (t, 6,1)	3,77 (m)	3,77 (dd, 11,5, 5,1)
6"	3,69 (dd, 11,9, 2,3)	3,62 (dd, 11,1, 6,1)	3,40 (dd, 13,5, 3,1)	3,49 (2H, d, 4,2)
	3,53 (dd, 12,0, 5,5)	3,51 (dd, 11,1, 6,3)		3,11 (dd, 11,6, 9,6)

Sur le spectre RMN ^{13}C des glycosides de kaempférol, 13 pics peuvent être identifiés dont un pour le groupe carbonyle à δ_{C} $179,6 \pm 0,2$ (C-4), et cinq pour des carbones quaternaires hydroxylés et hybridés sp^2 à δ_{C} $166,2 \pm 0,2$, $163,10 \pm 0,02$, $161,6$, $159,1 \pm 0,2$ et $158,54 \pm 0,05$ (tableau 51). La présence de seulement 13 pics est normale puisque le kaempférol présente un élément de symétrie au niveau du cycle B.

Tableau 51 : Données RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) pour les glycosides de kaempférol

Position	δ_{C} en ppm				
	43	49	55	1080	1084
2	159,07	159,04	158,84	159,42	158,91
3	135,47	135,59	135,58	134,96	135,35
4	179,53	nd ^a	179,58	179,95	179,41
5	163,11	163,10	163,11	163,12	163,07
6	99,96	100,02	100,04	99,90	99,95
7	166,21	166,40	166,42	166,04	166,10
8	94,81	94,85	94,86	94,82	94,81
9	158,55	158,57	158,53	158,59	158,46
10	105,71	105,61	105,60	105,69	105,65
1'	122,82	122,73	122,66	122,80	122,65
2',6'	132,31	132,40	132,30	132,02	132,19
3',5'	116,10	116,14	116,29	116,54	116,16
4'	161,61	161,65	161,68	161,60	161,66
Sucre	Glcp	Galp	Arap	Araf	Xylp
1''	104,09	105,00	104,41	109,65	104,63
2''	75,77	73,05	72,80	83,39	75,37
3''	78,07	75,07	74,04	78,66	77,55
4''	71,38	70,05	68,97	88,03	71,03
5''	78,46	77,17	66,78	62,55	67,23
6''	62,65	62,01			

^a nd : non détecté

Les sucres identifiés sur les composés **43**, **49**, **55**, **1080** et **1084** sont, respectivement, le β -D-glucopyranose, le β -D-galactopyranose, l' α -L-arabinopyranose, l' α -L-arabinofuranose et le β -D-xylopyranose (figure 119). La nature des sucres a été déterminée grâce à certaines constatations simples. Le glucose et le xylose sont deux sucres pour lesquels les hydrogènes du cycle sont tous en positions axiales. Leurs constantes de couplage sont donc élevées (7-10 Hz). Le galactose, un hexose fréquemment rencontré dans les produits naturels, présente un signal très faiblement couplé. Ce dernier s'explique par la position équatoriale du H-4. Les arabinoses peuvent adopter deux formes : pyranosides ou furanosides. Pour les distinguer, il faut d'abord assigner les différents signaux H et C aux positions 1 à 5. Ensuite, une corrélation HMBC entre H-1 et C-5 ou C-4 permet de trancher entre

pyranoside et furanoside, respectivement. Une fois la nature du sucre établie, il a fallu déterminer la configuration de la position anomérique, soit α ou β . Pour ce faire, c'est la constante de couplage $J_{H1,H2}$ qui a été analysée. Ainsi, une constante moyenne de 7,2 Hz pour les composés **43**, **49**, **55** et **1084** permet de situer le proton anomérique en position axiale. Pour l'arabinofuranoside, la configuration a été déterminée grâce aux données de la littérature [383]. Finalement, la stéréochimie absolue du sucre, le seul élément de chiralité présent sur ces composés, a été déterminée par la comparaison de l'indice de rotation spécifique expérimentale avec celle de la littérature. Malheureusement, la quantité de juglaline (**55**) isolée était trop faible pour en mesurer l'indice de rotation. Cependant, un autre arabinoside de configuration L (**1080**) a été formellement identifié. Comme il est peu probable de trouver dans une même plante des molécules avec des sucres de configuration D et L, la molécule **55** est vraisemblablement constituée de L-arabinopyranose. Les composés sont donc l'astragaline (**43**) [384], le trifoline (**49**) [385], le juglaline (**55**) [386], le juglanine (**1080**) [387] et le 3-O- β -D-xylopyranoside de kaempférol (**1084**) [388].

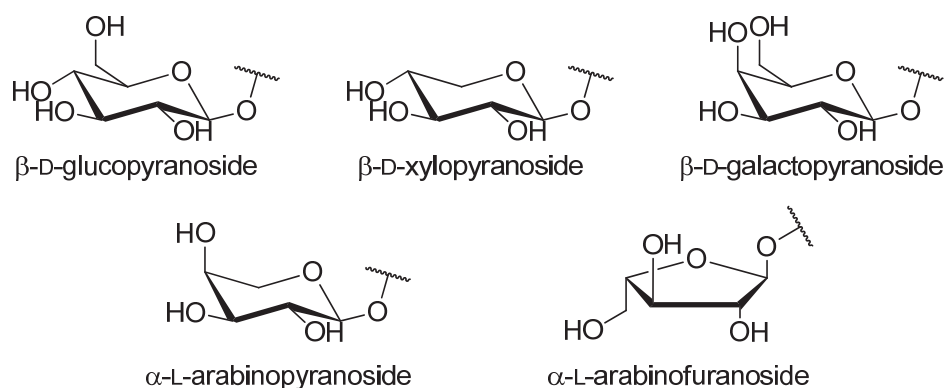


Figure 119 : Structure des sucres identifiés dans les glycosides isolés

Les composés **44**, **930** et **1083** sont constitués d'une quercétine. Celle-ci est facilement identifiable grâce à un groupe de signaux caractéristique d'un noyau aromatique trisubstitué aux positions 1,3 et 4. Ainsi, les pics à un δ_H moyen de $7,61 \pm 0,09$ (d, $J = 2,15 \pm 0,07$ Hz), $6,87 \pm 0,03$ (d, $J = 8,5 \pm 0,2$ Hz) et $7,56 \pm 0,05$ (dd, $J = 8,35 \pm 0,07$, $2,05 \pm 0,07$ Hz) sont attribués aux positions H-2', H-5' et H-6', respectivement (tableau 52). Pour les signaux RMN ^{13}C , seuls ceux des composés **930** et **1083** sont présentés au tableau 53. En effet, la faible quantité d'isoquercétine isolée (**44**, 0,5 mg) n'a pas permis d'obtenir un spectre RMN ^{13}C exploitable. Pour les autres composés, les signaux typiques d'une quercétine sont retrouvés.

Tableau 52 : Données RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) pour les glycosides de quercétine

Position	δ_{H} en ppm (mult., J en Hz)		
	44	930	1083
6	6,17 (d, 1,8)	6,20 (br s)	6,22 (d, 1,9)
8	6,36 (br s)	6,39 (br s)	6,40 (d, 2,1)
2'	7,71 (d, 2,2)	7,59 (m)	7,53 (d, 2,1)
5'	6,86 (d, 8,5)	6,85 (d, 8,6)	6,91 (d, 8,3)
6'	7,59 (dd, 8,4, 2,0)	7,59 (m)	7,50 (dd, 8,3, 2,1)
Sucre			
1''	5,23 (d, 7,5)	5,18 (d, 7,2)	5,47 (s)
2''	3,47 (t, 8,3)	3,51 (t, 8,3)	4,33 (s)
3''	3,42 (t, 8,6)	3,39 (t, 8,6)	3,92 (dd, 5,2, 2,9)
4''	3,34 (dd, 10,8, 9,0)	3,50 (m)	3,86 (m)
5''	3,21 (m)	3,78 (dd, 11,6, 5,2) 3,09 (dd, 11,7, 9,6)	3,50 (2H, m)
6''	3,71 (dd, 11,9, 2,3) 3,57 (dd, 11,9, 5,1)		

Les sucres identifiés pour les composés **44**, **930** et **1083** sont respectivement le β -D-glucopyranoside, le β -D-xylopyranoside et l' α -L-arabinofuranoside. Ceux-ci ont été identifiés comme mentionné précédemment. Pour s'en assurer, les données RMN des composés **43**, **1080** et **1084** (tableaux 50-51) peuvent être comparées avec celles des composés **44**, **1083** et **930**, respectivement (tableaux 52-53). La stéréochimie des sucres n'a pu être déterminée formellement en raison de la faible quantité isolée, dans le cas du composé **930**, ou de la présence connue d'une impureté chirale, dans le cas du composé **1083**. Les composés ont tout de même été identifiés comme étant l'isoquercétine (**44**) [384], le reinutrine (**930**) [389] et l'avicularine (**1083**) [387].

Tableau 53 : Données RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) pour les glycosides de quercétine

Position	δ_{C} en ppm	
	930	1083
2	159,83	159,38
3	135,42	134,94
4	nd ^a	180,02
5	163,10	163,12
6	100,06	99,95
7	166,55	166,20
8	94,83	94,82
9	158,50	158,62
10	106,28	105,62
1'	123,06	123,13
2'	117,20	116,86
3'	146,11	146,41
4'	149,94	149,90
5'	116,02	116,47
6'	123,30	109,55
Sucre	Xylp	Araf
1''	105,53	83,35
2''	75,33	78,73
3''	77,60	88,05
4''	71,04	62,57
5''	67,27	122,99

^a nd : non détecté

Une impureté importante, le composé **1082**, a pu être identifiée dans l'échantillon contenant l'avicularine (**1083**). L'analyse des spectres HSQC et COSY a permis d'identifier trois groupes de couplages : un β -glucose avec son proton anomérique à δ_{H} 4,33 (d, $J = 8,0$ Hz), une chaîne 3-hydroxybutyle avec un méthyle à δ_{H} 1,19 (d, $J = 6,2$ Hz) et un oxyméthine à δ_{H} 3,87 (m), et une cétone α,β -insaturée avec un méthyle en β à δ_{H} 2,05 (d, $J = 1,3$ Hz) (tableau 54, figure 120). Deux autres signaux associés à des méthyles, visibles à δ_{H} 1,01 (s) et 1,10 (s), présentent des corrélations HMBC réciproques avec un carbone quaternaire à δ_{C} 37,36 et un méthylène à δ_{C} 48,12. D'autres corrélations HMBC permettent de lier ces différents groupes pour donner la structure montrée à la figure 120. Dans la littérature, il existe deux molécules, qui diffèrent seulement par la stéréochimie au niveau de la position 9 : le glucoside de bluménol C [390] et le byzantionoside B [391]. Afin de distinguer ces deux épimères, Matsunami *et al.* ont réalisé une étude pour comparer ces deux composés [392]. Les

données RMN ^{13}C rapportées pour chacune des molécules sont reproduites au tableau 54. En comparant les déplacements chimiques aux positions C-9 et C-1'', il apparaît évident que le composé isolé (**1082**) correspond au byzantionoside B [392].

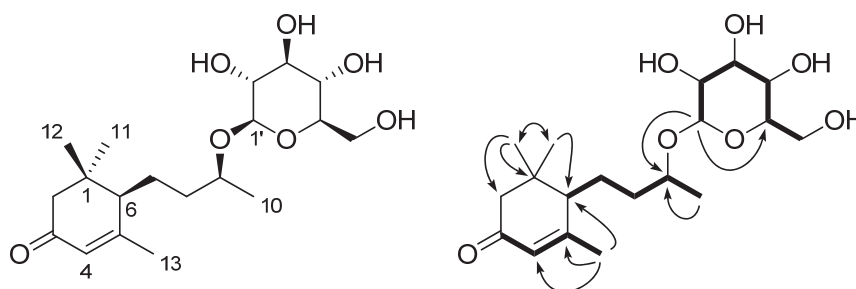


Figure 120 : Structure du byzantionoside B (**1082**) et corrélations COSY (—) et HMBC (→)

Tableau 54 : données RMN ^1H et ^{13}C (CD_3OD) du byzantionoside B (**1082**)

Position	Valeurs expérimentales		Valeurs de la littérature	
	δ_{H} en ppm (mult., J en Hz)	δ_{C} en ppm	6 <i>R</i> ,9 <i>S</i> [392]	6 <i>R</i> ,9 <i>R</i> [392]
1		37,36	37,4	37,4
2	2,47 (d, 17,4) 1,97 (m)	48,12	48,2	48,2
3		202,48	202,4	202,5
4	5,81 (s)	125,41	125,6	125,5
5		170,17	169,8	170,1
6	1,98 (m)	52,43	52,7	52,5
7	1,95 (m) 1,51 (m)	26,87	26,7	26,9
8	1,63 (2H, m)	37,84	37,5	37,9
9	3,87 (m)	75,54	77,7	75,7
10	1,19 (3H, d, 6,2)	19,91	22,0	19,9
11	1,01 (3H, s)	29,10	29,1	29,1
12	1,10 (3H, s)	27,56	27,5	27,6
13	2,05 (3H, d, 1,3)	25,01	25,0	25,0
Glucose				
1'	4,33 (d, 8,0)	102,15	104,1	102,3
2'	3,14 (dd, 9,1, 7,8)	75,20	75,4	75,3
3'	3,35 (m)	78,20	78,3	78,3
4'	3,26 (m)	71,88	71,8	72,0
5'	3,26 (m)	77,93	77,9	78,0
6'	3,86 (m)	62,95	62,9	63,1

Tableau 55 : Données RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) pour les tannins hydrolysables

Position	δ_{H} en ppm (mult., J en Hz)			
	965	966	967	970
1	6,05 (d, 8,3)	5,93 (d, 8,4)	6,11 (d, 8,3)	6,25 (d, 8,3)
2	5,41 (dd, 9,9, 8,2)	5,22 (t, 9,0)	5,45 (dd, 9,9, 8,3)	5,59 (9,8, 8,4)
3	5,53 (t, 9,5)	3,83 (m)	5,59 (dd, 9,6, 9,0)	5,92 (t, 9,7)
4	3,88 (t, 9,7)	3,67 (t, 9,3)	3,97 (dd, 9,7, 8,8)	5,63 (t, 9,7)
5	3,69 (m)	3,83 (m)	4,03 (ddd, 10,0, 4,3, 1,9)	4,42 (m)
6	3,92 (br d, 12,9)	4,57 (br d, 12,0)	4,62 (dd, 12,4, 1,9)	4,52 (br d, 11,1)
	3,80 (dd, 12,2, 4,6)	4,47 (dd, 12,1, 4,6)	4,53 (dd, 12,1, 4,3)	4,39 (m)
2,6 ^I	7,02 (2H, s)	7,01 (2H, s)	7,03 (2H, s)	7,06 (2H, s)
2,6 ^{II}	6,91 (2H, s)	7,05 (2H, s)	6,94 (2H, s)	6,95 (2H, s)
2,6 ^{III}	7,03 (2H, s)		7,04 (2H, s)	6,90 (2H, s)
2,6 ^{IV}				6,98 (2H, s)
2,6 ^{VI}		7,11 (2H, s)	7,13 (2H, s)	7,12 (2H, s)
				7,07 (2H, s)

Le composé **1079** a été identifié comme étant le gallate d'éthyle [393]. Le spectre RMN ^1H présente peu de signaux : un singulet à δ_{H} 7,04 (2H) avec deux autres signaux à δ_{H} 4,26 (2H, q, $J = 7,1$ Hz) et 1,33 (3H, t, $J = 7,1$ Hz). Le spectre RMN ^{13}C présente quatre signaux pour un noyau aromatique symétrique (146,5, 139,7, 121,8 et 110,0) en plus d'un signal pour une fonction ester (168,7). Ces signaux sont importants parce qu'ils forment la base des structures identifiées à la suite.

Les composés **965**, **966**, **967**, **970** et **1078** présentent tous des signaux caractéristiques des tannins hydrolysables, c'est-à-dire qui contiennent des unités galloyles. Celles-ci sont repérées par des singulets situés entre δ_{H} 7,13-6,90 et qui présentent tous une intégration correspondant à 2H (tableau 55). Des signaux caractéristiques du glucopyranose sont aussi visibles entre δ_{H} 6,25-3,51. Ainsi, un doublet avec une constante de couplage moyenne de 7,9 Hz, caractéristique d'une configuration β , est accompagné d'une série de triplets ou de doublets de doublets.

Pour déterminer la position des unités galloyles, il faut d'abord établir la séquence H-1 à H-6 du glucose grâce au spectre COSY. Sachant que la présence d'une unité galloyle sur un des alcools du glucose déblinde le signal du proton d'environ +1,9 ppm (ou +0,65 ppm pour la position H-6), il devient alors facile de déterminer sa position. Également, une corrélation HMBC entre l'oxyméthine du glucose et le carbonyle du l'unité galloyle est toujours visible (tableau 56).

La stéréochimie absolue de ces composés a pu être déterminée par la comparaison des indices de rotation spécifique expérimentales qui concordent toutes avec celles trouvées dans la littérature. C'est ainsi que les composés ont été identifiés comme étant le 1,2,3-tri-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**965**) [394], le 1,2,6-tri-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**966**) [395], le 1,2,3,6-tétra-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**967**) [396], le 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**970**) [397] et le 1,6-di-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**1078**) [396].

Tableau 56 : Données RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) pour les tannins hydrolysables

Position	δ_{C} en ppm				
	965	966	967	970	1078
1	93,92	93,40	93,93	93,83	95,98
2	72,45	73,86	72,39	72,20	74,14
3	76,79	75,53	76,49	74,13	78,07
4	69,35	71,00	69,66	69,80	71,23
5	79,07	76,17	76,65	74,44	76,51
6	61,89	63,97	64,00	63,13	64,47
1 ^I	120,00	118,87	119,84	119,73	120,61
2,6 ^I	110,56	109,59	110,61	110,62	140,51
3,5 ^I	140,68	139,17	140,75	146,57	167,03
4 ^I	146,56	144,95	146,54	140,78	110,61
7 ^I	166,42	164,67	166,34	166,23	146,56
1 ^{II}	120,51	119,92	120,41	120,25	
2,6 ^{II}	110,39	109,41	110,40	110,41	
3,5 ^{II}	140,20	138,61	140,24	146,39	
4 ^{II}	146,36	144,89	146,35	140,32	
7 ^{II}	167,20	165,74	167,20	167,03	
1 ^{III}	121,09		120,98	120,37	
2,6 ^{III}	110,43		110,43	110,38	
3,5 ^{III}	139,99		140,03	146,30	
4 ^{III}	146,39		146,38	140,14	
7 ^{III}	167,83		167,74	167,31	
1 ^{IV}				120,21	
2,6 ^{IV}				110,47	
3,5 ^{IV}				146,46	
4 ^{IV}				140,37	
7 ^{IV}				166,93	
1 ^{VI}		120,13	121,23	121,05	121,31
2,6 ^{VI}		109,25	110,24	110,34	139,93
3,5 ^{VI}		138,49	140,00	146,49	168,34
4 ^{VI}		144,98	146,54	140,02	110,22
7 ^{VI}		166,40	168,19	167,94	146,52

Deux autres tannins hydrolysables ont été isolés, soit les composés **976** et **977**. Lorsque les spectres de la première molécule (**976**) sont regardés sommairement, il semble y avoir une impureté. Ainsi, lorsque ceux-ci ont été interprétés pour la première fois, seuls les pics majoritaires ont été considérés. Comme pour les autres tannins, des singulets d'intégration 2H sont présents à δ_{H} 7,01 (2H, s) et 6,92 (2H, s) et peuvent donc être associés à deux groupes galloyle (tableau 57). Deux autres singulets apparaissent à plus haut champ et d'intégration 1H à δ_{H} 6,60 (1H, s) et 6,49 (1H, s). Ces deux signaux sont associés à un groupe 3,3',4,4',5,5'-hexahydroxydiphenoyl (HHDP), caractéristique

des ellagitannins. Finalement, un proton anomérique à δ_H 5,49 (d, $J = 3,8$ Hz) est associé à un α -glucose.

Les points d'attache des deux groupes galloyles et du HHDP ont été déterminés grâce à des corrélations HMBC. Ainsi, deux unités galloyles sont liées aux positions 2 et 3 du glucose et le HHDP est lié aux positions 4 et 6. La stéréochimie absolue a été validée par la mesure de l'indice de rotation spécifique, qui coïncide avec celle rapportée dans la littérature. Il est intéressant de mentionner que le lien biphényle porte une chiralité du même type que dans les atropisomères. De ce fait, la stéréochimie à ce niveau est *S* (figure 121). Cette particularité a fait l'objet d'un grand nombre d'études qui ont été résumées par Quideau, en 1996 [398]. Brièvement, la stéréochimie du centre chiral dans un groupe 4,6-HHDP est toujours *S* et découle du mécanisme biosynthétique impliquant l'oxydation de deux noyaux galloyles adéquatement disposés.

Le composé **976** est donc la tellimagrandine I, un composé isolé pour la première fois à partir du *Tellima grandiflora* [399]. En regardant la structure, il devient évident que "l'impureté" présente dans l'échantillon n'est autre que l'anomère β du même composé. Le doublet situé à δ_H 4,96 (d, $J = 7,6$ Hz) confirme cette hypothèse. L'assignation complète des signaux 1H et ^{13}C pour les deux anomères est rapportée aux tableaux 57-58.

Tableau 57 : Données RMN 1H (400 MHz, CD_3OD) pour les tellimagrandines I (**976**) et II (**977**)

Position	δ_H en ppm (mult., J en Hz)		
	976		977
	α	β	
1	5,49 (d, 3,8)	4,96 (d, 7,6)	6,11 (d, 8,3)
2	5,09 (dd, 10,0, 3,7)	5,19 (dd, 9,3, 7,8)	5,54 (dd, 9,4, 8,4)
3	5,83 (t, 10,0)	5,59 (t, 9,7)	5,76 (t, 9,7)
4	5,12 (t, 10,1)	5,14 (t, 10,2)	5,23 (t, 9,9)
5	4,64 (dd, 10,1, 6,8)	4,21 (dd, 9,8, 6,4)	4,43 (dd, 10,1, 6,4)
6	5,32 (dd, 12,7, 6,6)	5,35 (dd, 12,8, 6,6)	5,39 (dd, 13,3, 6,5)
	3,82 (d, 12,8)	3,90 (d, 13,0)	3,92 (d, 13,3)
2,6 ^I			7,05 (2H, s)
2,6 ^{II}	7,01 (2H, s)	6,99 (2H, s)	6,95 (2H, s)
2,6 ^{III}	6,92 (2H, s)	6,89 (2H, s)	6,91 (2H, s)
2 ^{IV}	6,49 (s)	6,45 (s)	6,48 (s)
2 ^{VI}	6,60 (s)	6,60 (s)	6,61 (s)

Tableau 58 : Données RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) pour les tellimagrandines I (976) et II (977)

Position	δ_{C} en ppm		
	976	977	
	α	β	
1	91,80	97,12	94,19
2	73,61	74,82	72,47
3	72,00	74,33	74,07
4	71,99	71,69	71,28
5	67,61	71,59	73,64
6	64,29	64,22	63,73
1 ^I			119,74
2,6 ^I			110,61
3,5 ^I			140,82
4 ^I			146,62
7 ^I			166,19
1 ^{II}	120,60	120,59	120,32
2,6 ^{II}	110,42	110,37	110,41
3,5 ^{II}	140,16	140,01	140,33
4 ^{II}	146,41	146,38	146,43
7 ^{II}	167,48	167,12	166,92
1 ^{III}	120,79	120,93	120,45
2,6 ^{III}	110,46	110,48	110,53
3,5 ^{III}	139,93	139,95	140,11
4 ^{III}	146,22	146,19	146,27
7 ^{III}	167,94	167,70	167,57
1 ^{IV}	126,36	126,32	126,24
2 ^{IV}	108,26	108,24	108,21
3 ^{IV}	137,62	137,62	137,80
4 ^{IV}	145,94	145,93	145,86
5 ^{IV}	144,82	144,82	145,17
6 ^{IV}	116,42	116,46	116,69
7 ^{IV}	169,32	169,24	169,24
1 ^{VI}	125,96	125,89	126,24
2 ^{VI}	108,66	108,62	108,59
3 ^{VI}	137,62	137,62	137,78
4 ^{VI}	145,87	145,89	145,82
5 ^{VI}	144,82	144,82	145,15
6 ^{VI}	116,71	116,66	116,87
7 ^{VI}	169,78	169,68	169,59

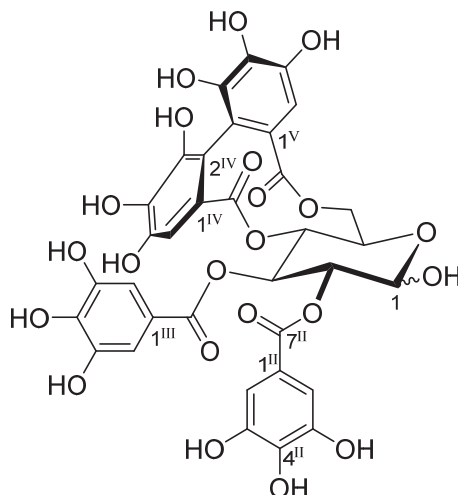


Figure 121 : Structure de la tellimagrandine I (**976**)

Les spectres RMN du composé **977** ressemblent fortement à ceux du composé **976**, mais sans la présence d'anomère ce qui suggère que la position 1 est substituée. Cela se confirme par une corrélation HMBC entre H-1 à δ_H 6,11 (d, $J = 8,3$ Hz) et un carbonyle à δ_C 166,19. Ce dernier est également corrélé avec un troisième signal de type galloyle situé à δ_H 7,05 (2H, s). Le composé **977** est donc la tellimagrandine II [400].

Le composé **259** est une molécule relativement simple (figure 122). Une paire de doublet à δ_H 7,59 (d, $J = 15,9$ Hz) et 6,30 (d, $J = 15,9$ Hz) suggère une double liaison de géométrie *E* (tableau 59). Les trois autres signaux à δ_H 7,05 (d, $J = 2,0$), 6,95 (dd, $J = 8,3, 2,0$) et 6,77 (d, $J = 8,2$) sont typiques d'un noyau aromatique trisubstitué aux positions 1,3 et 4. Un carbonyle à δ_C 169,05 ainsi que deux carbones sp^2 oxygénés à δ_C 149,65 et 146,84 complètent le tableau. Le composé **259** correspond donc à l'acide caféique [401].

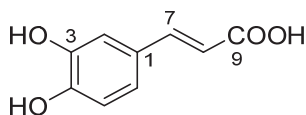
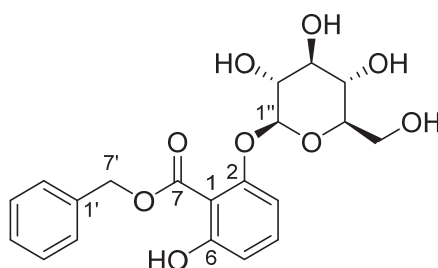


Figure 122 : Structure de l'acide caféique (**259**)

Tableau 59 : Données RMN (CD₃OD) de l'acide caféique (**259**)

Position	δ_H en ppm (mult., J en Hz)	δ_C en ppm
1		127,76
2	7,05 (d, 2,0)	115,20
3		146,84
4		149,65
5	6,77 (d, 8,2)	116,52
6	6,95 (dd, 8,3, 2,0)	123,04
7	7,59 (d, 15,9)	147,26
8	6,30 (d, 15,9)	114,88
9		169,05

La dernière molécule à identifier, le composé **1081**, se compose de trois groupes distincts (). Trois signaux aromatiques à δ_H 7,50 (2H, d, $J = 7,4$ Hz), 7,38 (2H, t, $J = 7,4$ Hz), 7,32 (t, $J = 7,1$ Hz) et un singulet à δ_H 5,38 (2H, s) constituent le premier groupe, soit un hydroxybenzyle (tableau 60). Un proton anomérique à δ_H 4,94 (d, $J = 6,4$ Hz), lié à un carbone à δ_C 102,75, est associé à un β -glucose. Le dernier groupe est représenté par trois signaux, intégrant chacun pour 1H, à δ_H 7,27 (t, $J = 8,3$ Hz), 6,75 (d, $J = 8,4$ Hz), 6,59 (d, $J = 8,4$ Hz). Ceux-ci sont associés à un noyau aromatique trisubstitué aux positions 1,2 et 3. Des signaux carbones de ce système, situés à δ_C 159,80 et 158,25, indiquent la présence de deux fonctions phénoliques. D'après une corrélation HMBC, un carbonyle, aussi présent à δ_C 169,05, est lié à l'hydroxybenzyle. Il est difficile de déterminer la position du carbonyle, mais le carbone quaternaire à δ_C 110,87 semble être la meilleure option. Quant à l'unité glucidique, une corrélation HMBC entre le proton anomérique et le carbone phénolique à δ_C 158,25 indique clairement son point d'attache.

**Figure 123** : Structure du 2-O- β -glucopyranosyl-2,6-dihydroxybenzoate de benzyle (**1081**)

Le seul élément de chiralité de cette molécule est le β -glucose. Bien que cette molécule ait été décrite dans quelques études, l'indice de rotation spécifique n'y a jamais été mentionné [402, 403]. Aussi, la faible masse isolée de ce composé ne permet pas d'effectuer une réaction d'hydrolyse. La

stéréochimie absolue ne peut donc être établie avec certitude. Selon ces résultats, le composé **1081** s'avère être le 2-*O*-β-glucopyranosyl-2,6-dihydroxybenzoate de benzyle [402].

Tableau 60 : Données RMN (CD₃OD) du 2-*O*-β-D-glucopyranosyl-2,6-dihydroxybenzoate de benzyle (**1081**)

Position	δ _H en ppm (mult., J en Hz)	δ _C en ppm
1		110,87
2		158,25
3	6,75 (d, 8,4)	107,79
4	7,27 (t, 8,3)	134,04
5	6,59 (d, 8,4)	111,57
6		159,80
7		170,00
Benzyle		
1'		137,40
2',6'	7,50 (2H, d, 7,4)	129,22
3',5'	7,38 (2H, t, 7,4)	129,55
4'	7,32 (t, 7,1)	129,22
7'	5,38 (2H, s)	68,19
Glucose		
1"	4,94 (d, 6,4)	102,75
2"	3,39 (m)	74,93
3"	3,39 (m)	78,34
4"	3,34 (m)	71,25
5"	3,43 (m)	77,99
6"	3,86 (br d, 12,2) 3,66 (dd, 12,2, 5,7)	62,54

Pour résumer, le tableau suivant reprend les composés isolés. Leur structure est donnée aux figures 106 (p. 326) et 112 (p. 331). Également, les spectres RMN ¹H et ¹³C sont donnés dans la section "Informations supplémentaires" (p. 375). Les seuls produits déjà connus pour être présents dans *C. canadensis* sont l'astragaline (**43**), l'isoquercétine (**44**) et le juglaline (**55**) [276]. Par opposition, les composés **1078-1084** sont décrits pour la première fois dans le genre *Cornus*. Quant aux autres composés, ils sont isolés pour la première fois dans le *C. canadensis*.

Tableau 61 : Résumé des composés isolés dans *C. canadensis*

ID	Nom	P.M. (g mol ⁻¹)	Fractions	Quantité (mg)
43	astragaline	448,38	F4.1 F5.6	0,7 9,3
44	isoquercétine	464,38	F5.6	0,5
49	trifoline	448,38	F5.6	2,4
55	juglaline	418,35	F5.5	2,0
259	acide caféique	180,16	F4.5.3	15,5
930	reinutrine	434,35	F5.6	0,5
965	1,2,3-tri- <i>O</i> -galloyl- β -D-glucopyranoside	636,47	F4.4	3,5
966	1,2,6-tri- <i>O</i> -galloyl- β -D-glucopyranoside	636,47	F4.4 F4.5.3	6,9 7,6
967	1,2,3,6-tétra- <i>O</i> -galloyl- β -D-glucopyranoside	788,57	F4.4 F4.5	12,6 4,9
970	1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -galloyl- β -D-glucopyranoside	940,68	F4.5 F4.5.6	9,3 66,9
976	tellimagrandine I	786,56	F4.4 F4.5 F4.5.3	3,0 5,0 39,2
977	tellimagrandine II	938,66	F4.5	1,1
1078	1,6-di- <i>O</i> -galloyl- β -D-glucopyranoside	484,36	F4.4	1,7
1079	gallate d'éthyle	197,17	F4.1 F5.3	4,2 13,5
1080	juglanine	418,35	F5.4 F5.5 F5.6	387,8 2,1 0,9
1081	2- <i>O</i> - β -glucopyranosyl-2,6-hydroxybenzoate de benzyle	406,38	F5.3	3,3
1082	byzantionoside B	372,45	F5.5	1,7
1083	avicularine	434,35	F5.5	2,1
1084	3- <i>O</i> - β -D-xylopyranoside de kaempférol	418,35	F5.5 F5.6	2,1 0,8

3.4. Activité antivirale des composés isolés

L'activité biologique de quelques-uns des composés a été évaluée selon la même procédure que pour les fractions. Les résultats sont présentés au tableau 62. On peut d'abord constater que l'inhibition de la prolifération virale des composés à 25 $\mu\text{g ml}^{-1}$ est comparable à celle obtenue pour les différentes fractions (figure 96, p. 317).

Tableau 62 : Activité antivirale (HSV-1, 24 puits) des composés isolés

Composé (P.M. en g mol ⁻¹)	Inhibition ^a (%) à 25 µg ml ⁻¹			EC ₅₀ (µM) ^b		
	Absorption	Réplication	Direct	Absorption	Réplication	Direct
967 (788,6)	65 ± 7	na ^c	67 ± 15	11 ± 3	> 25	6 ± 2
970 (940,7)	70 ± 15	na ^c	83 ± 10	10 ± 1	> 25	9 ± 2
976 (786,6)	99,8 ± 0,1	na ^b	100,0 ± 0,1	5,0 ± 0,2	> 25	2,6 ± 0,2
977 (938,7)	86 ± 17	na ^b	91 ± 10	11 ± 3	> 25	7 ± 1

^a Valeur extrapolée à partir des paramètres calculés de la courbe sigmoïdale ; ^b concentration inhibant à 50 % la prolifération virale ; ^c na : non actif.

Le composé le plus actif, la tellimagrandine I (**976**), est le seul composé du groupe qui présente une position anomérique libre. Aussi, la comparaison des EC₅₀ des composés **970** et **977** montre que la fusion des groupes galloyles en position 4 et 6 ne change pas significativement la bioactivité. Finalement, il faut noter que la bioactivité est meilleure en mode direct qu'en mode absorption, et ce, dans tous les cas. Cette observation avait déjà été faite avec les extraits et les fractions (voir tableau 49, p. 315 et figure 96, p. 317). L'explication donnée vaut donc toujours : il est probable que ces substances agissent directement sur le virus.

L'ensemble des composés isolés a ensuite été testé en utilisant un protocole adapté pour les plaques 96 puits. Les résultats obtenus (tableau 63) suggèrent que seul le 1,2,6-tri-*O*-galloyl-β-D-glucopyranoside (**966**) soit actif contre le virus HSV-1. Effectivement, des EC₅₀ de 183 ± 23 et 167 ± 36 µM ont été calculée pour les modes absorptions et directs respectivement. Ces nouveaux résultats sont en complète contradiction avec ceux du tableau 62. Malheureusement, les faibles quantités de substances isolées ont empêché la reprise de l'expérience, sauf dans le cas de la tellimagrandine I (**976**) dont une partie a été récupérée après le test *in vitro*. La qualité de l'échantillon a été évaluée en comparant les spectres RMN enregistrés tout de suite après l'isolement, puis à nouveau juste avant la deuxième expérience *in vitro* (figure 124). L'impureté présente dans cet échantillon est de l'acide caféique (**259**). L'activité biologique a ensuite été évaluée en utilisant le même protocole. L'EC₅₀ obtenue est de 70 ± 8 et 54 ± 4 µM, pour les modes absorption et direct, respectivement. Bien que ces valeurs soient toujours largement supérieures à celles obtenus lors de l'expérience en 24 puits, elles confirment que les composés isolés sont bioactifs.

Tableau 63 : Activité antivirale (HSV-1, 96 puits) des composés isolés

Composé	EC ₅₀ (IC ₅₀) en µM ^a		
	Prévention	Absorption	Réplication
astragaline (43)	> 200	> 200	> 200
Isoquercétine (44)	> 50	> 50	> 50
trifoline (49)	> 200	> 200	> 200
juglaine (55)	> 100	> 100	> 100
acide caféique (259)	> 200	> 200	> 200
réinutrine (930)	> 150	> 150	> 150
1,2,3-G ₃ -β-D-Glc (965)	> 25	> 25	> 25
1,2,6-G ₃ -β-D-Glc (966)	> 200	183 ± 23	> 200 (143 ± 47)
1,2,3,6-G ₄ -β-D-Glc (967)	> 200	> 200	> 200 (45 ± 6)
PGG (970)	> 200	> 200	> 200 (17 ± 2)
tellimagrandine I (976)	> 200	> 200 (185 ± 45)	> 200 (50 ± 5)
tellimagrandine II (977)	> 150	> 150	> 150
gallate d'éthyle (1079)	> 200 (196 ± 61)	> 200	> 200
juglanine (1080)	> 200	> 200	> 200
1081	> 150	> 150	> 150
byzantionoside B (1081) et avicularine (1083)	> 50	> 50	> 50
1084	> 200	> 200	> 200
acide gallique	> 200	> 200	> 200 (81 ± 6)
Acyclovir ^b	> 2,8	0,11 ± 0,05	0,014 ± 0,004

^a EC₅₀ : Concentration inhibant à 50 % la prolifération virale ; IC₅₀ : concentration inhibant à 50 % la croissance des cellules hôtes ; La toxicité des composés (IC₅₀) est donnée lorsqu'applicable ; ^b Contrôle positif

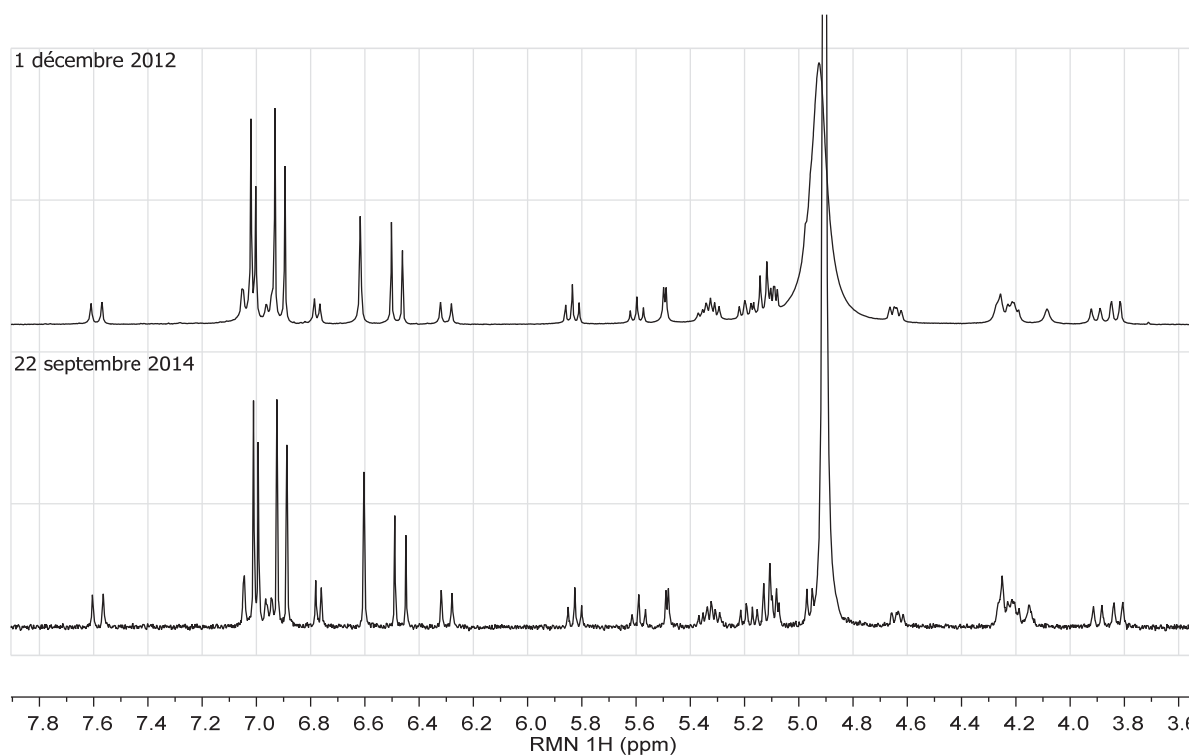


Figure 124 : Spectres RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz) de la tellimagrandine (**976**) enregistrés à 22 mois d'intervalle

3.5. Activité *in vivo*

L'extrait hydroalcoolique de *C. canadensis* a été utilisé lors d'une expérimentation *in vivo* sur la souris. Ainsi, des animaux infectés avec le HSV-1 ont été traités avec différentes doses d'extrait (0, 2,5, 5 et 10 mg ml^{-1}) puis l'efficacité a été évaluée par une inspection visuelle ainsi que par un titre des virus dans les larmes et les ganglions trigéminaux. Les résultats de l'inspection visuelle, qui consistait à évaluer la présence d'inflammation, de lésions et/ou de pertes de poils, sont montrés à la figure 125. On peut noter une différence significative entre les groupes traités à 10 mg ml^{-1} ou avec seulement le véhicule, et ce, aux jours post-infection 9 à 11. Cependant, la réplication aiguë du virus ne semble pas perturbée. En effet, les titres viraux dans les yeux et les ganglions (figure 126) ne sont pas significativement différents selon un test ANOVA suivi par un test de comparaison multiple de Bonferroni ($p = 0.05$).

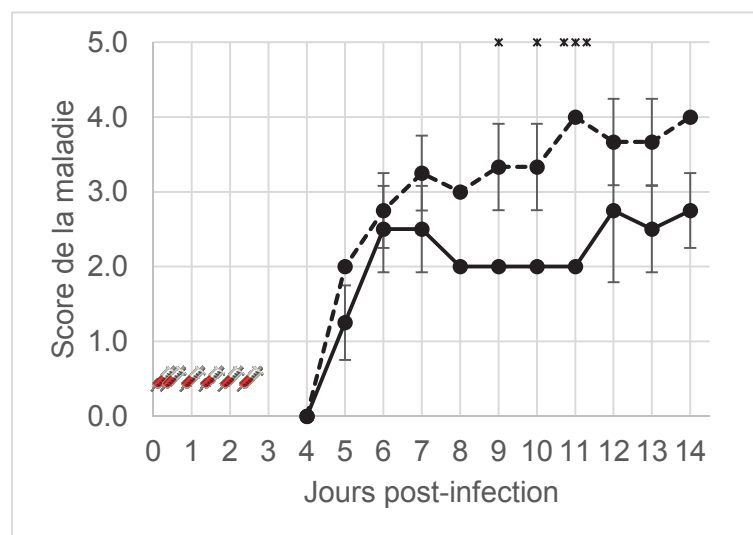



Figure 125 : Scores cliniques des souris infectées au HSV-1
 (--) : groupe n'ayant reçu que le véhicule ; (—) : groupe ayant été traité avec 10 mg ml⁻¹ d'extrait ;  : Injection ; * Valeurs significativement différentes selon un test ANOVA et un test de comparaison multiple de Bonferroni (* p < 0,05, *** p < 0,01).

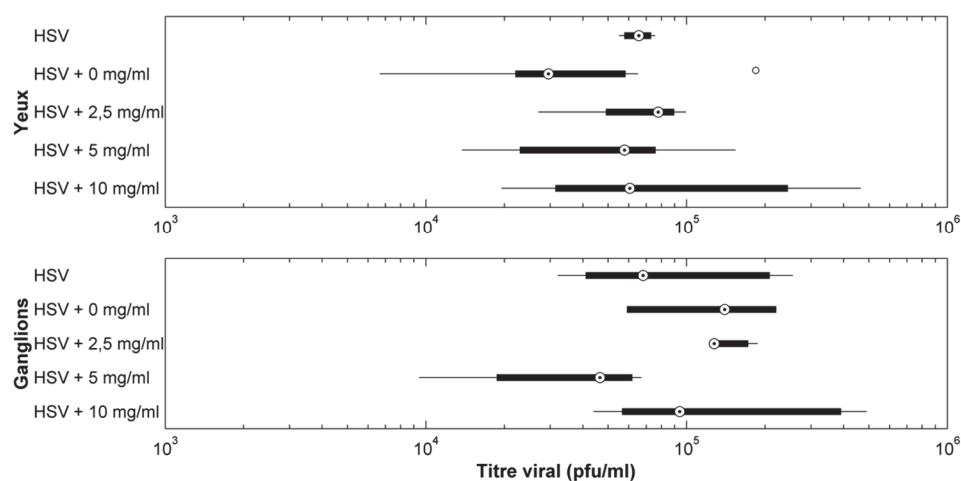


Figure 126 : Titres viraux des souris infectées au HSV-1
 En haut : titres viraux dans l'œil des souris ; en bas : titres viraux dans les ganglions trigéminaux ; rectangles noirs : valeurs comprises entre le 25e et le 75e percentile ; point : valeur médiane ; ligne : valeurs non aberrantes ; cercles : valeurs aberrantes.

3.6. Étude temporelle

Lors des travaux réalisés dans le cadre de la maîtrise d'Isabelle Côté [39], il avait été démontré que les extraits de *Cornus canadensis* inhibait la réplication du virus HSV-1. Ces résultats ont été

confirmés (tableau 49), mais dans une moindre mesure. Une hypothèse a été émise pour expliquer la variation de cette activité biologique : les principes actifs varient en concentration durant la saison de croissance de la plante. C'est pour cette raison qu'une étude temporelle a été entreprise. Pour ce faire, une série d'échantillons de *Cornus canadensis* a été cueillie tout au long de l'été 2013, à différents endroits dans la région du Saguenay Lac-St-Jean. Les plantes ont été extraites fraîches ou mises préalablement à sécher. Aussi, certains échantillons ont été décortiqués afin d'extraire séparément les parties aériennes ou les racines.

3.6.1 Rendements

Tous les échantillons ont été extraits en suivant le même protocole. Les rendements d'extraction sont donnés au tableau 64.

Tableau 64 : Variables (jour, latitude, partie, traitement et rendement) de chaque échantillon

ID	Jour ^a	Latitude	Partie ^b	Traitement ^c	Rendement (%) ^e
1	144	N 48.43°	0	0	26,2
2	145	N 48.47°	0	0	12,6
3	145	N 48.47°	0	1	36,1
4	156	N 48.45°	0	0	12,9
5	160	N 48.45°	0	0	11,4
6	163	N 49.91°	0	0	8,6
7	160	N 48.45°	0	1	37,9
8	163	N 49.91°	0	1	34,5
9	173	N 48.45°	0	0	13,2
10	173	N 48.45°	0	1	32,4
11	188	N 48.45°	0	0	15,7
12	188	N 48.45°	0	1	26,0
13	197	N 48.40°	0	0	12,5
14	202	N 48.45°	1	0	11,9
15	202	N 48.45°	2	0	6,0
16	156	N 48.45°	0	1	38,0
17	197	N 48.40°	0	1	19,9
18	202	N 48.45°	1	1	23,8
19	202	N 48.45°	2	1	12,8
20	216	N 48.45°	0	0	11,2
21	216	N 48.45°	0	1	23,0
22	230	N 48.45°	0	0	12,4
23	230	N 48.45°	1	1	26,1
24	230	N 48.45°	2	1	9,4
25	253	N 48.45°	1	1	26,6
26	253	N 48.45°	2	1	18,7
27	271	N 48.45°	1	0	13,5
28	271	N 48.45°	2	0	10,1
29	271	N 48.45°	1	1	28,9
30	271	N 48.45°	2	1	14,6
Corrélation^f	-0,27	0,06	-0,34	0,68	

^a Jour de l'année ; ^b Partie de la plante : 0, partie entière, 1, partie aérienne, 2, racine ; ^c Traitement : 0, frais, 1, sec ; ^e Rendement d'extraction par rapport à la masse du matériel végétal avant l'extraction ; ^f Coefficient de corrélation de la variable avec le rendement.

Afin de déterminer l'influence des différentes variables (jour, latitude, partie, traitement) sur le rendement, les coefficients de corrélation ont été calculés entre chacune de ces variables et le rendement d'extraction. Mais avant, les variables "Partie" et "Traitement" ont été numérisées de manière arbitraire. Sans surprise, la variable qui influence le plus le rendement est le traitement, c'est-à-dire si les plantes ont été séchées ou non avant l'extraction. Étant donné que celles-ci étaient pesées avant l'extraction, ce qui inclut l'humidité contenue dans les plantes, le rendement est forcément plus

faible pour les plantes fraîches. D'ailleurs, grâce à cette différence, le taux moyen d'humidité des plantes fraîches a pu être estimé à 58 ± 14 %. Notons que les extractions des plantes fraîches avaient été réalisées par crainte d'une dégradation des composés bioactifs lors de la période de séchage. Cependant, la comparaison des chromatogrammes HPLC d'extraits provenant de plantes sèches ou fraîches ne semble pas révéler de différences majeures (figure 127).

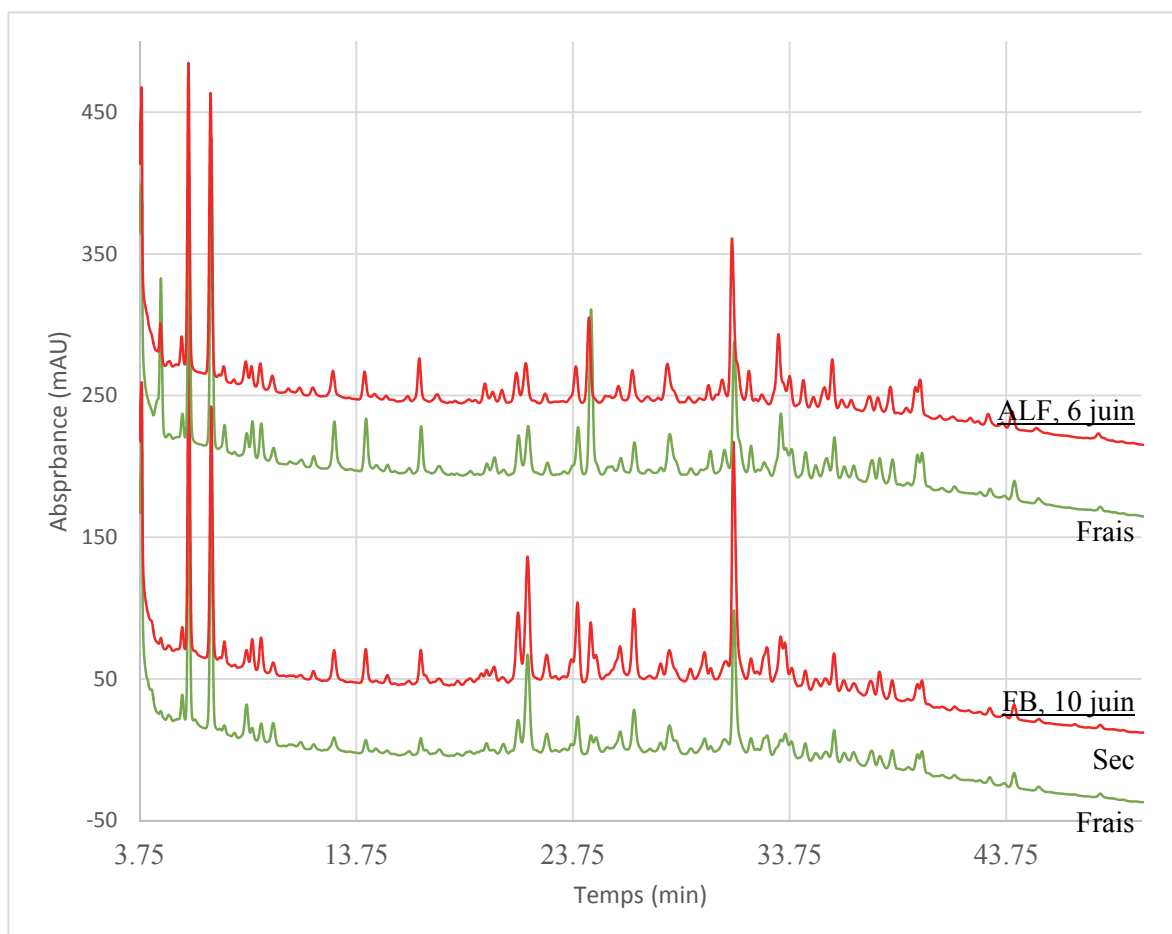


Figure 127 : Chromatogramme HPLC d'extraits provenant de plantes fraîches ou séchées. En haut, plantes cueillies chez Anne-Lise Fortin le 6 juin 2013 ; en bas, plantes cueillies à Ferland-Boileau le 10 juin 2013. En vert, plantes fraîches ; en rouge, plantes séchées.

Une autre variable importante est la partie de la plante. Étant donné que ce paramètre, qui est de nature discrète, a été numérisé de manière arbitraire, le coefficient de corrélation ne peut être interprété directement. Aussi, la comparaison des moyennes des rendements d'extraction pour chacune des parties risque d'être biaisée puisque la plupart des échantillons où la plante entière a été extraite sont ceux du début de la saison, tandis que les échantillons décortiqués sont à la fin de la

saison. Sachant cela, les rendements moyens des racines et des parties aériennes pour les échantillons secs ont été calculés et sont de $14 \pm 5 \%$ et $26 \pm 2 \%$, respectivement.

La dernière variable importante est le jour de récolte. D'après la figure 128, il semble que le rendement d'extraction diminue de mai à juillet puis se stabilise jusqu'à la fin de la saison. La courbe dessinée est un modèle exponentiel optimisé qui suppose un rendement d'extraction maximum de 41 % au début de la saison suivie d'une diminution jusqu'à un plateau de 18 %. Il sera intéressant de comparer cette tendance avec la composition et la bioactivité des extraits.

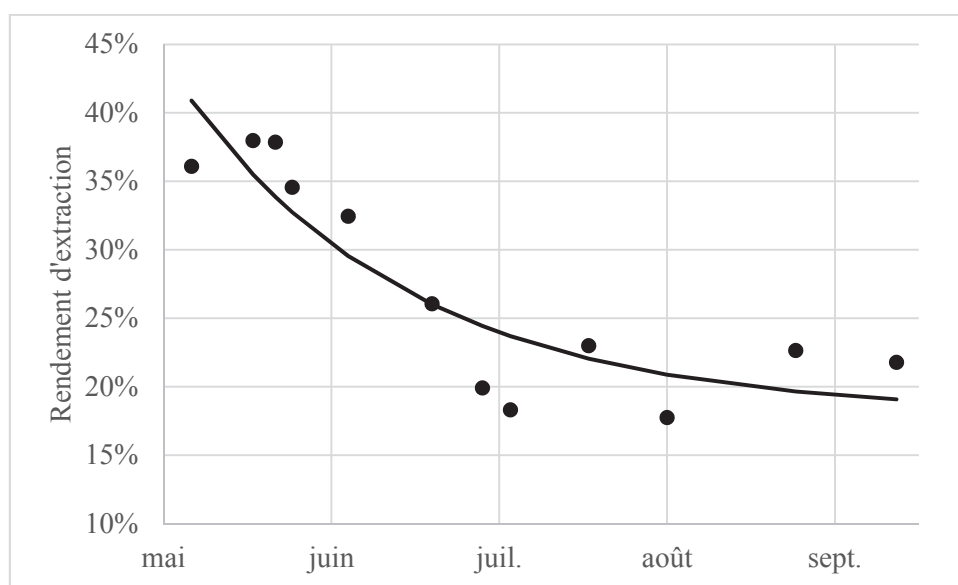


Figure 128 : Évolution saisonnière du rendement d'extraction des plantes entières et séchées

3.6.2 Composition

La composition des différents extraits a été déterminée par HPLC. L'analyse statistique des chromatogrammes par la méthode des composantes principales (PCA) a ensuite été réalisée. Cet outil mathématique permet de transformer un ensemble de variables corrélées en un ensemble réduit de variables non corrélées [404]. Cette méthode a été mise à profit dans de nombreuses études de métabolomiques [405, 406]. Pour ce faire, les points situés entre 3,75 et 50 min (6938 points) ont été normalisés pour que leur somme soit égale à un pour chaque chromatogramme. La fonction "princomp" du logiciel Matlab a ensuite été utilisée sur ces données. La variance des données est expliquée à 60 % par les deux premières composantes (PC1, 39 % et PC2, 21 %) et il faut 8 composantes pour expliquer 90 % de la variance. La mise en graphique des deux premières

composantes montre qu'il est possible de discriminer la composition des racines de la composition des parties aériennes ou de la plante entière (figure 130).

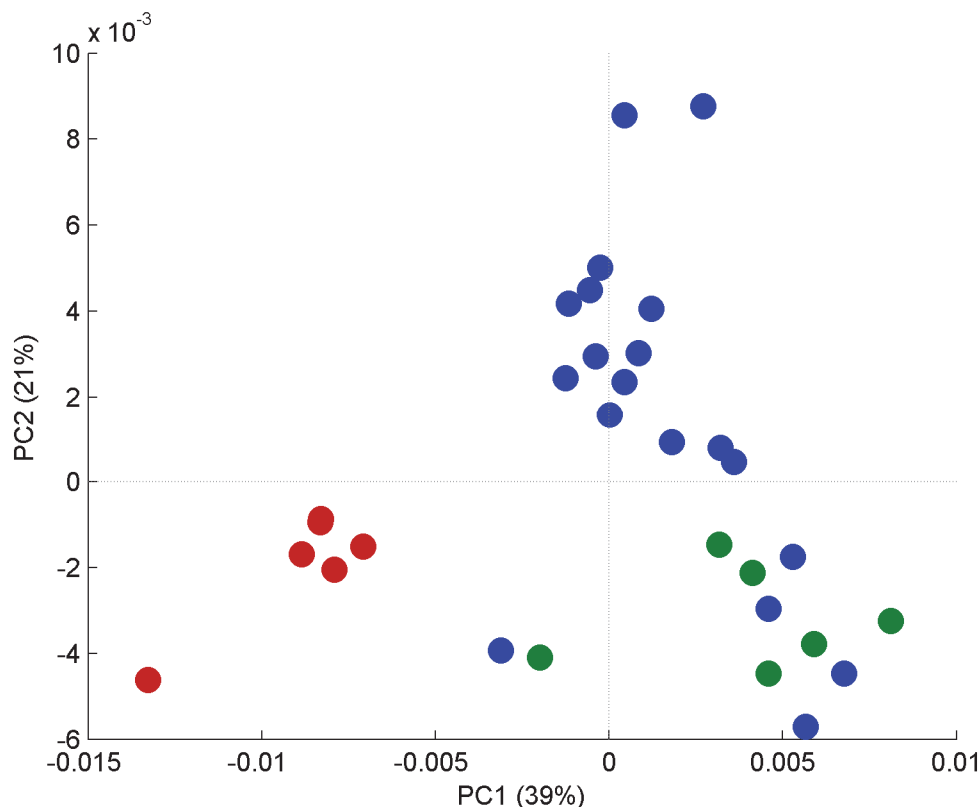


Figure 129 : Analyse en composante principale des chromatogrammes HPLC des extraits de *Cornus*
Bleu : plantes entières ; vert : parties aériennes ; rouge : racines.

La discrimination des racines est possible grâce à la PC1. Il est donc pertinent de juxtaposer les coefficients pour la PC1 aux chromatogrammes représentatifs des extraits de racines, de parties aériennes ou de plantes entières (figure 130). Les pics coïncidant avec les coefficients négatifs représentent des composés plus abondants dans les extraits de racines. À l'inverse, les pics coïncidant avec les coefficients positifs représentent des composés plus abondants dans les extraits de parties aériennes ou de plantes entières. Les cinq composés les plus importants pour les racines sont les pics à 16,49, 19,65, 21,81, 31,48 et 32,20 min. Une partie des composés a été injectée sur la colonne avec la même méthode et seul le 1,2,3-tri-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**965**) a pu être identifié à 16,49 min. Cependant, en comparant les spectres UV de ces pics (figure 131) avec les spectres UV des composés isolés (figures 132-133), il semblerait que tous ces pics soient des tannins.

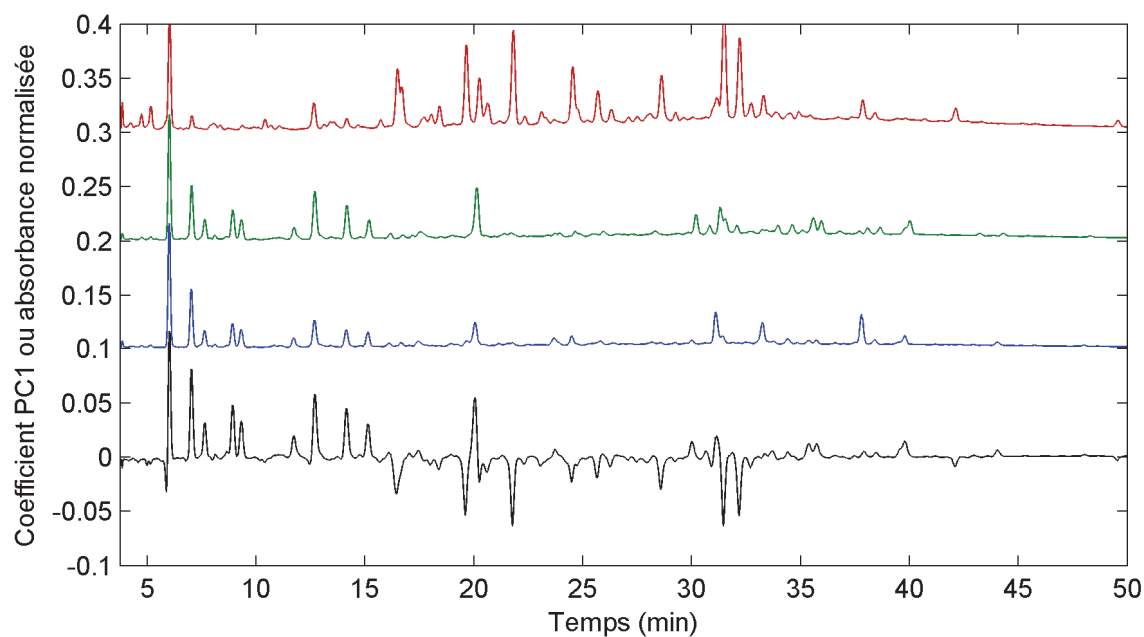


Figure 130 : Coefficients PC1 et chromatogrammes de trois extraits représentatifs Plantes récoltées les 17-22 juillet. En noir, coefficients PC1 ; en bleu : plantes entières ; en vert : parties aériennes ; en rouge : racines. Les échelles sont ajustées.

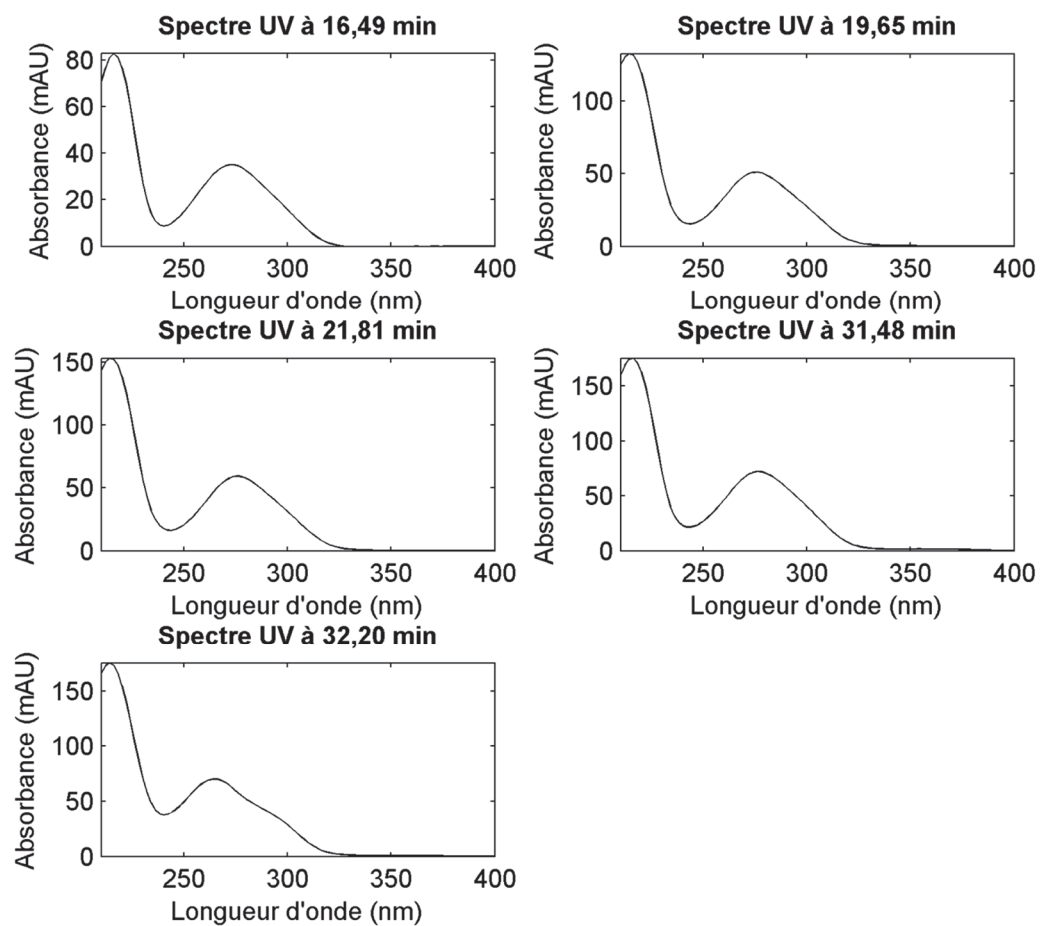


Figure 131 : Spectres UV des pics déterminants pour les racines de *C. canadensis*

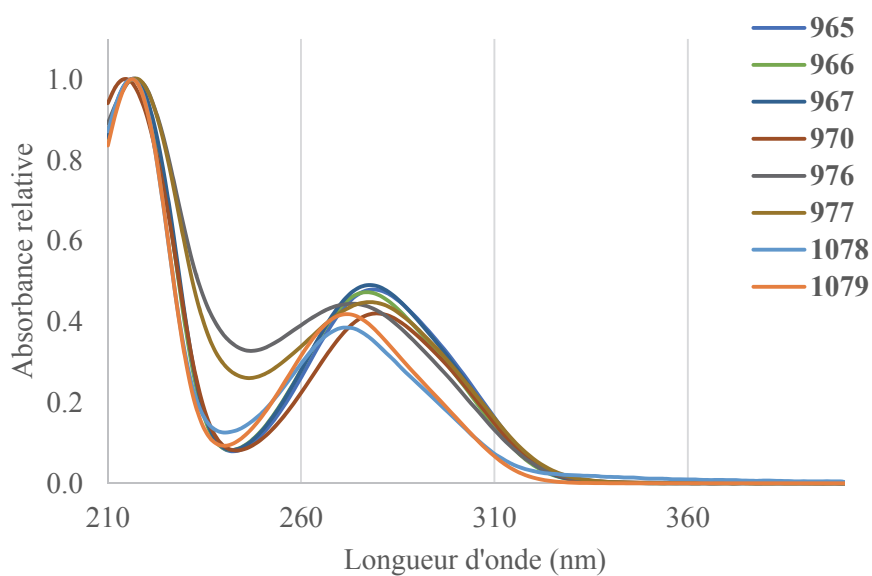


Figure 132 : Spectres UV des tannins isolés dans le *C. canadensis*

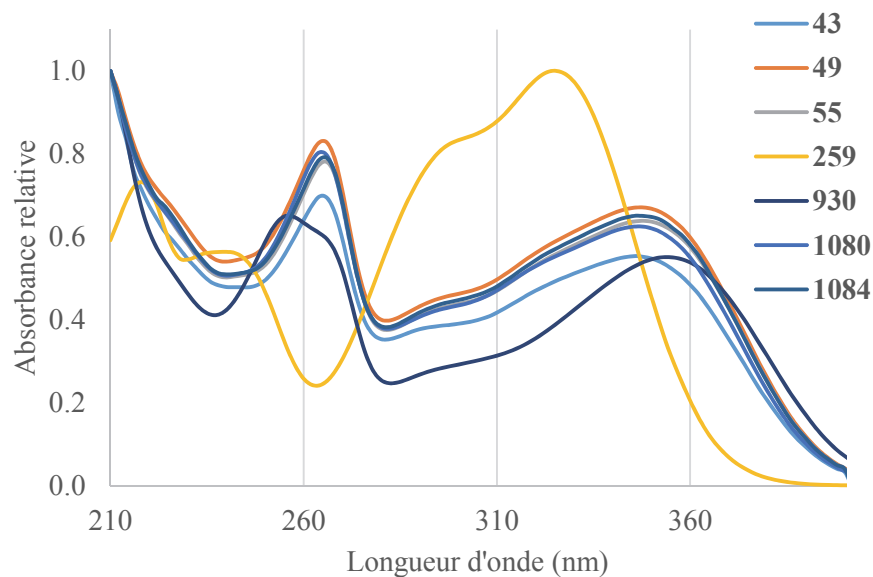


Figure 133 : Spectres UV d'autres composés isolés dans le *C. canadensis*

Un autre constat très intéressant peut être dégagé de la figure 129 : la plupart des échantillons issus des parties aériennes ou entières semblent être distribués selon l'axe PC2. Si ces mêmes données sont représentées en fonction du jour de l'année de la récolte, une tendance linéaire se dégage (figure 134)

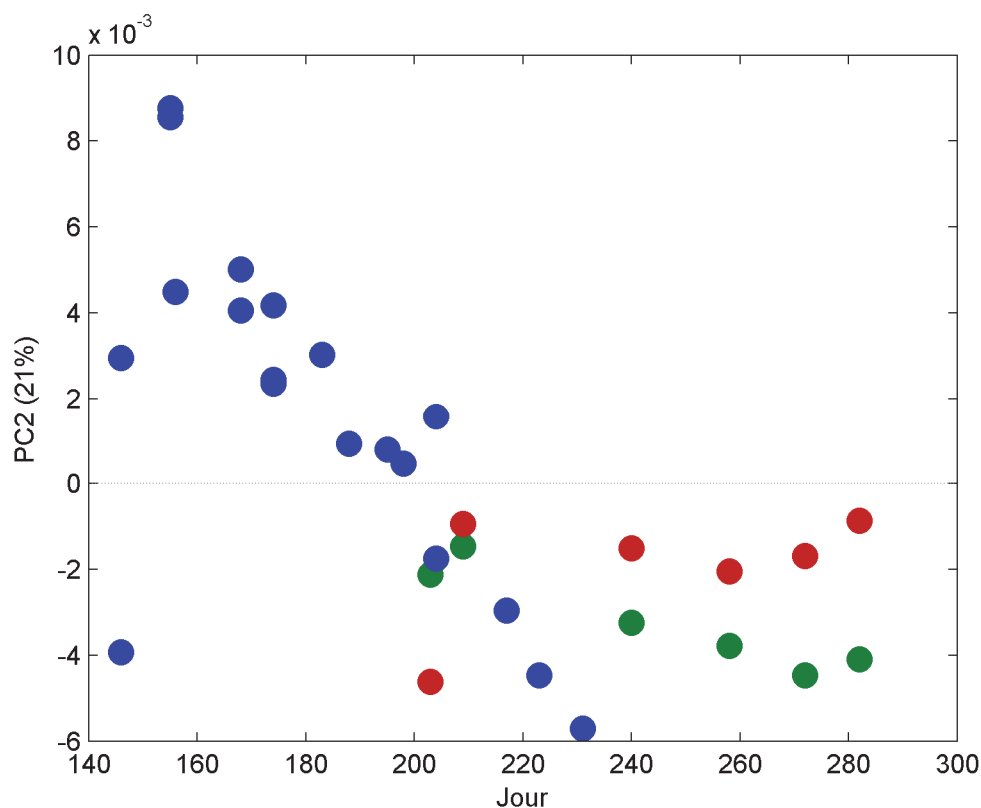


Figure 134 : Analyse PC2 des chromatogrammes des extraits de *C. canadensis* en fonction du jour de récolte

En bleu : plantes entières ; en vert : parties aériennes ; en rouge : racines.

De manière générale, la deuxième composante principale (PC2) est inversement proportionnelle au jour de récolte des plantes. L'analyse des coefficients de la PC2 et des chromatogrammes d'extraits récoltés au début et en fin d'année permet d'identifier quelques pics qui augmentent en intensité durant la saison de croissance du *C. canadensis* (figure 135). Les spectres UV des cinq pics les plus importants pour l'extrait de la récolte tardive (19 août) sont représentés à la figure 136. Lorsque comparés aux spectres des standards (figures 132-133), trois de ces composés semblent être des dérivés de l'acide caféique (**259**). D'ailleurs, ce dernier, lorsqu'injecté sur la colonne avec la même méthode, présente un temps de rétention de 20,01 min, ce qui permet d'identifier au moins un de ces pics.

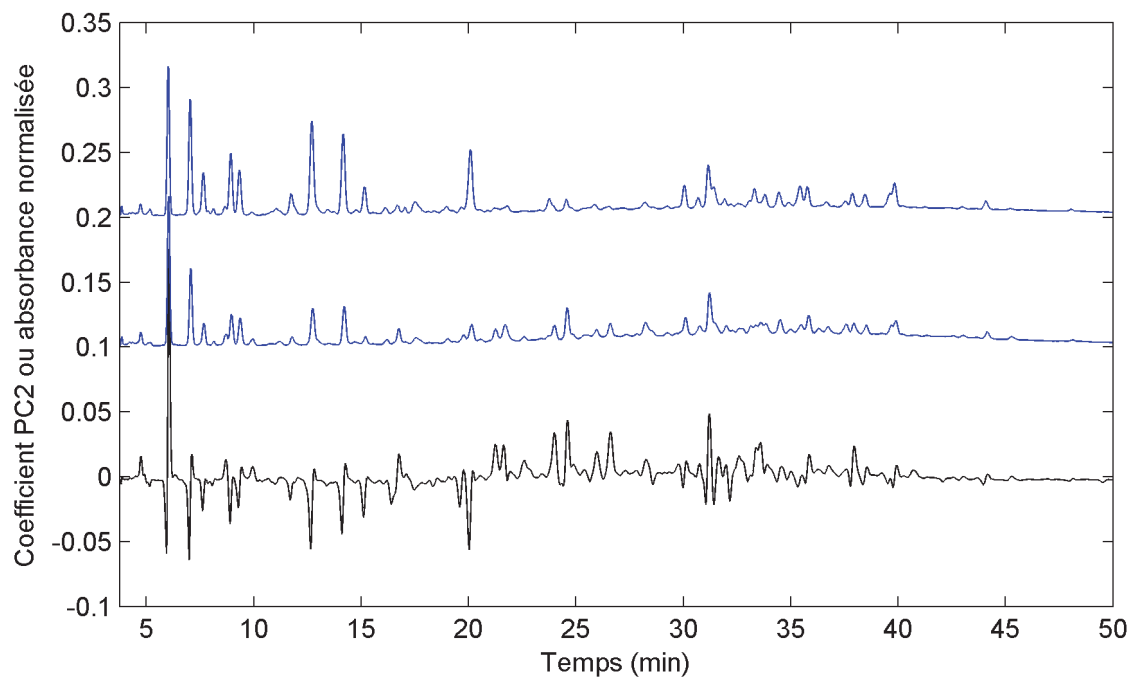


Figure 135 : Coefficients PC2 (noir) et chromatogrammes de deux extraits représentatifs
En noir : coefficients PC2 ; en bleu, au milieu : plantes récoltées le 6 mai 2013 ; en bleu,
en haut : plantes récoltées le 19 août 2013. Les échelles sont ajustées.

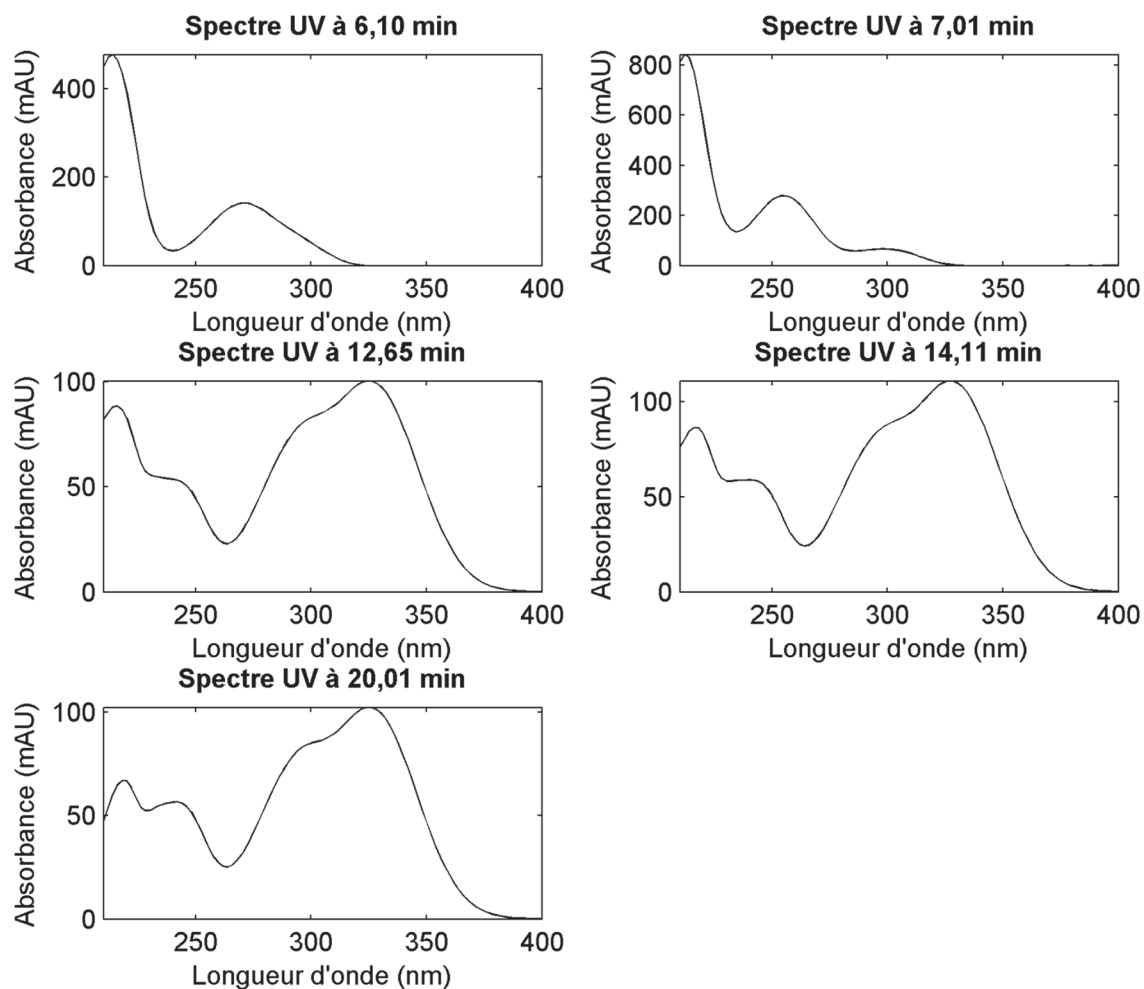


Figure 136 : Spectres UV des pics déterminants pour un extrait de plantes récoltées le 19 août 2013

3.6.3 Bioactivité

L'activité antivirale de tous les extraits décrits au tableau 48 a été évaluée selon les quatre modes habituels. Les résultats bruts sont donnés au tableau 65.

Tableau 65 : Activités antivirales (HSV-1, 96-puits) des échantillons de plantes récoltées

ID	EC ₅₀ (IC ₅₀), en µg ml ⁻¹			
	Protection	Absorption	Réplication	Direct
1	> 200	108 ± 31	> 200 (115 ± 18)	101 ± 68
2	> 200	> 200	> 200 (29 ± 15)	39 ± 3
3	> 200 (160 ± 53)	102 ± 44	> 200 (43 ± 6)	> 200
4	> 200	> 200	> 200 (46 ± 7)	45 ± 2
5	> 200 (149 ± 7)	> 200 (181 ± 19)	> 200 (42 ± 5)	50 ± 41
6	> 200	102 ± 27	> 200 (57 ± 9)	25 ± 5
7	> 200 (136 ± 8)	> 200 (178 ± 15)	> 200 (41 ± 4)	> 200
8	> 200	> 200	> 200 (52 ± 10)	47 ± 18
9	> 200 (130 ± 24)	> 200	> 200 (67 ± 6)	88 ± 38
10	> 200	> 200	> 200 (113 ± 33)	76 ± 33
11	> 200 (160 ± 56)	> 200	> 200 (59 ± 4)	> 200
12	> 200	> 200	> 200 (123 ± 29)	24 ± 1
13	> 200 (184 ± 41)	> 200 (198 ± 28)	> 200 (78 ± 6)	> 200
14	> 200	179 ± 39	> 200 (93 ± 14)	132 ± 88
15	> 200	184 ± 39	180 ± 25	25 ± 8
16	> 200 (138 ± 16)	> 200	> 200 (83 ± 7)	> 200
17	> 200	151 ± 45	> 200	33 ± 4
18	nt ^b	nt ^b	nt ^b	nt ^b
19	> 200	> 200	> 200 (80 ± 4)	166 ± 61
20	> 200	194 ± 53	> 200	63 ± 9
21	> 200	> 200	> 200 (101 ± 10)	126 ± 38
22	> 200	> 200	> 200 (101 ± 10)	> 200
23	> 200	188 ± 29	> 200 (97 ± 3)	127 ± 31
24	> 200	> 200	> 200 (77 ± 6)	> 200
25	> 200	161 ± 40	> 200 (68 ± 5)	125 ± 23
26	> 200	> 200	> 200 (81 ± 7)	167 ± 87
27	> 200	122 ± 11	> 200 (66 ± 4)	93 ± 10
28	> 200	> 200	> 200 (91 ± 7)	> 200
29	> 200	134 ± 19	> 200 (92 ± 7)	92 ± 11
30	> 200	> 200	> 200 (56 ± 5)	> 200
Acyclovir ^c	> 0,08	> 0,08	0,06 ± 0,02	> 0,08

^a EC₅₀ : Concentration inhibant à 50 % la prolifération virale ; IC₅₀ : concentration inhibant à 50 % la croissance des cellules hôtes ; La toxicité des composés (IC₅₀) est donnée lorsqu'applicable ; ^b non testé ; ^c Contrôle positif (acyclovir).

La plupart des échantillons présentent une activité antivirale en mode direct. L'échantillon le plus actif est un extrait de la plante entière, cueillie le 8 juillet 2013 au site "Anne-Lise Fortin" (ID = 12, EC₅₀ 24 ± 1 µg ml⁻¹). Pratiquement aucune activité n'a été observée dans les modes protection et réplication, tandis que dans le mode absorption, quelques échantillons se sont avérés actifs. Il est aussi intéressant de noter que dans le mode réplication, la plupart des extraits présentent de la toxicité.

Une comparaison de l'activité biologique en mode direct au sein de différents groupes (parties, traitements et sites de cueillette) a été réalisée. Pour ce faire, les valeurs de pEC_{50} ont été calculées puis groupées selon la partie de la plante, le traitement avant l'extraction et le site de cueillette [407]. La moyenne et l'écart-type ont été calculés pour chacun de ces groupes (figure 137). Également, un test ANOVA suivi d'un test de comparaison multiple de Bonferroni ($p < 0.05$) a été réalisé afin de déterminer des différences significatives. Selon ces analyses, il n'existe aucune différence significative entre les éléments de chaque groupe.

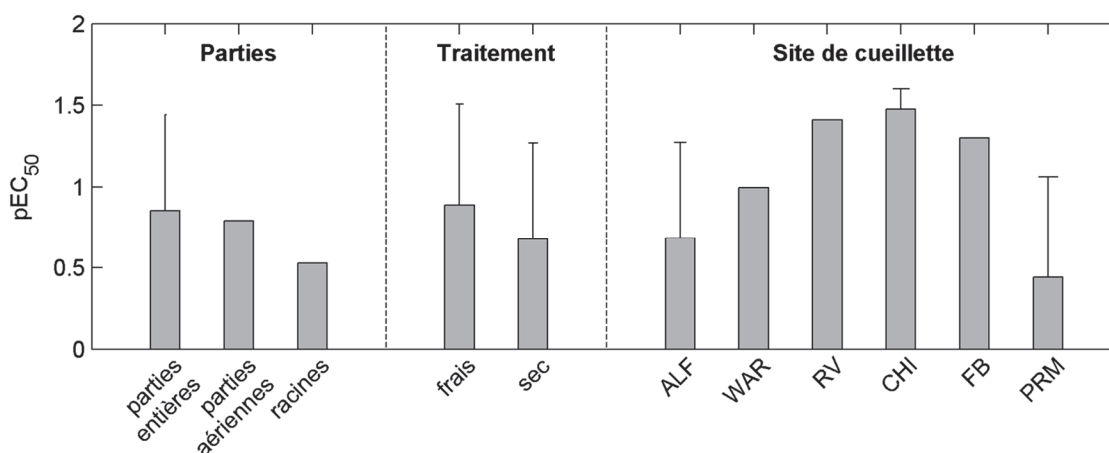


Figure 137 : Moyenne par groupes des pEC_{50} en mode direct (HSV-1, 96-puits)

À la figure 138, les valeurs de pEC_{50} ont été tracées en fonction du jour de récolte. Si les échantillons n'ayant pas présentés d'activité antivirale à la concentration maximale testée ($> 200 \mu g\ ml^{-1}$) sont ignorées, on peut observer une très légère diminution de l'activité biologique au cours de la saison. Cependant, cette tendance demande à être vérifiée puisque les données proviennent de trois expériences distinctes. En effet, des variations importantes de l'activité d'un même échantillon au sein de différentes expériences ont été observées durant ces travaux.

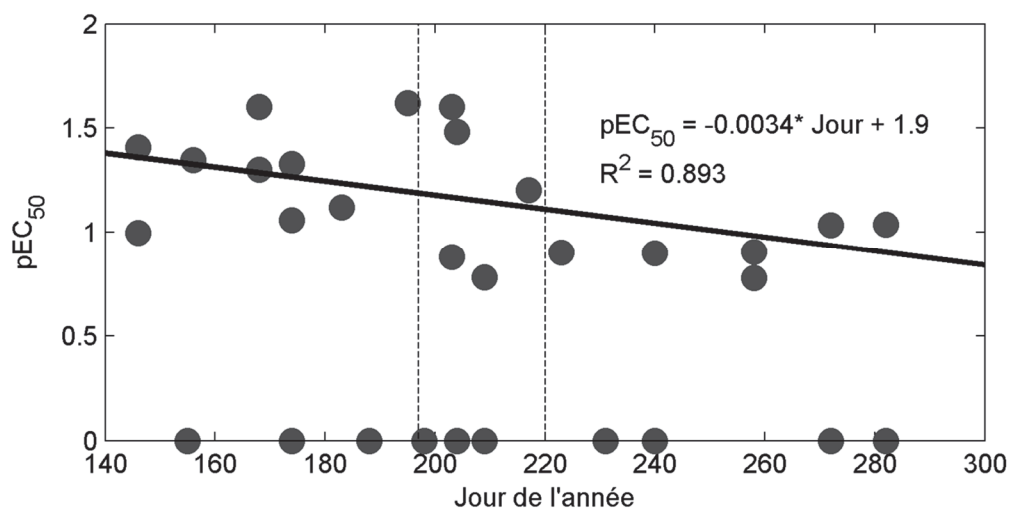


Figure 138 : Activité antivirale (HSV-1, 96 puits) en mode direct des extraits de *C. canadensis* en fonction du jour de récolte

Les échantillons à $pEC_{50} = 0$ étaient inactifs (> 200). Trois expériences ont été réalisées afin de tester l'ensemble de ces échantillons. Des lignes pointillées séparent les échantillons selon ces expériences.

4. CONCLUSION

L'objectif de ce travail était d'identifier le(s) composé(s) responsable(s) de la bioactivité observée avec les extraits hydroalcooliques de *C. canadensis*. Pour y arriver, un fractionnement guidé par les bioessais a été réalisé. À partir des fractions actives, huit composés ont pu être isolés, soit le 1,6-di-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**1078**), 1,2,3-tri-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**965**), le 1,2,6-tri-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**966**), le 1,2,3,6-tétra-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**967**), le 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**970**), la tellimagrandine I (**976**) et la tellimagrandine II (**977**). Certain de ces composés se sont avérés actifs contre le HSV-1, tant en mode direct qu'en mode absorption, et de ce fait, ils sont considérés en partie responsables de la bioactivité observée avec l'extrait.

Une grande prudence est nécessaire dans l'interprétation des activités biologiques. D'abord, deux tests ont été utilisés, soit un test en plaque 24 puits avec un compte des plages de lyse et un test en plaque 96 puits avec un compte utilisant la résazurine. Les activités antivirales d'une même substance évaluées à l'aide de ces deux tests se sont avérées différentes (tableau 62 vs tableau 63). Aussi, la tellimagrandine I (**976**) a été testée deux fois selon le même protocole (96 puits) et des résultats opposés ont été obtenus. Il est donc impératif d'améliorer la répétabilité du test antiviral avant de poursuivre les travaux associés au *Cornus canadensis*.

Certains des composés isolés avaient déjà été étudiés pour leurs activités antivirales. Par exemple, les tannins hydrolysables ont montré des activités antiherpétiques comparables à celles obtenues au laboratoire (tableau 66). Cependant, une très grande variation des valeurs d'EC₅₀ peut être remarquée pour une même substance ce qui suggère que les tests antiviraux doivent être répétés un grand nombre de fois pour être réputés fiables.

Tableau 66 : Activités antiherpétiques (HSV-1) rapportées dans la littérature

Composés	EC ₅₀ (μM) ^a	Inhibition (%) ^b	Dose (μM)	Référence
43	> 100			[408]
44	-	58,3	38	[409]
259	-	99,8	4 000	[410]
930		0	58	[409]
965	99 ± 24			[408]
	44 ± 4			[411]
966	55			[412]
	46 ± 2			[411]
967	22			[412]
970	12			[412]
	8,0 ± 0,7			[413]
	4,1 ± 0,7			[414]
	0,050			[415]
976	0,046			[415]
977	15			[412]
	5,3 ± 0,6			[416]
1079	113 ± 20			[417]
1083	> 200			[418]

^a Concentration inhibant à 50 % la prolifération virale; ^b % d'inhibition de la prolifération virale à la dose mentionnée à la colonne adjacente

L'acide tannique (**1085**, figure 139) a aussi été étudiée pour son activité antiherpétique sur des fibroblastes rénaux (CV-1) [415]. Dans cette étude, le mécanisme d'action a été en partie déterminé à l'aide de tests similaires à ceux réalisés dans cette thèse. Ainsi, l'acide tannique (**1085**) inhibe complètement la prolifération virale lorsque testé à 10 μg ml⁻¹, et ce, seulement en mode absorption. Les modes protection et réplication ont donné des résultats négatifs lorsque testés à la même concentration. Ces résultats sont donc compatibles avec ceux du tableau 62.

La grippe est causée par différentes souches du virus influenza. Bien que l'activité antivirale des tannins contre ces virus ne soit pas connue, l'astragaline (**43**), l'isoquercétine (**44**), l'acide caféique (**259**) et le 2-*O*-β-glucopyranosyl-2,6-hydroxybenzoate de benzyle (**1081**) ont fait l'objet de quelques études dans ce domaine. Ainsi, les EC₅₀ rapportées sont : 38,4 μM (rvH1N1) pour **43** [419], 1,2 μM (H1N1 Oh7) pour **44** [420], 276 μM (H1N1 A/Toyama/129/2011) pour **259** [421] et > 25 μM (H3N2 A/Hanfang/359/95) pour **1081** [403]. Les mécanismes d'action ne sont pas connus, mais dans une étude sur l'inhibition de l'activité de la neuraminidase, une enzyme impliquée dans la libération du virus, les deux composés **43** et **44** se sont avérés inactifs [422]. Des résultats très intéressants ont été publiés pour l'isoquercétine (**44**) [423]. D'abord, une synergie a été démontrée lorsque l'isoquercétine

(**44**) et l'amantadine étaient combinées. Aussi, la résistance des virus qui se développe normalement contre l'amantadine ou l'oseltamivir était complètement inhibée lorsque ces derniers étaient combinés avec l'isoquercétine (**44**). Finalement, des tests sur des souris ont permis de réduire la charge virale par un facteur 19 et les marqueurs inflammatoires dans les poumons ont été fortement réduits.

En ce qui concerne le VIH, le virus à l'origine du sida, diverses études permettent d'avoir une idée de l'activité de certains des composés isolés. D'abord, l'activité antivirale a été évaluée pour l'astragaline (**43**, $EC_{50} = 22 \mu M$), l'isoquercétine (**44**, $EC_{50} > 200 \mu M$) [424], la tellimagrandine I (**976**, $EC_{50} = 20 \mu M$), la tellimagrandine II (**977**, $EC_{50} = 27 \mu M$) [425] et l'avicularine (**1083**, $EC_{50} > 200 \mu M$) [424]. Également, l'inhibition de certaines enzymes impliquées dans le cycle infectieux du VIH a été évaluée. La transcriptase inverse a été inhibée par l'astragaline (**43**, $IC_{50} = 125 \mu M$), l'isoquercétine (**44**, $IC_{50} = 50 \mu M$) [426], mais pas par le reinutrine (**930**, $IC_{50} > 200 \mu M$) [426] ou l'avicularine (**1083**, $IC_{50} > 100 \mu M$) [427]. L'intégrase est aussi une cible prisée sur laquelle le 1,2,6-tri-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**966**, $IC_{50} = 44,5 \mu M$) et la tellimagrandine I (**976**, $IC_{50} = 35,6 \mu M$) se sont avérés de bon inhibiteur, mais pas le reinutrine (**930**, $IC_{50} > 200 \mu M$) [428].

D'autres activités antivirales ont été rapportées pour certains de ces composés. Les composés **43**, **966**, **967**, **970**, **976**, **977** et **1079** ont montré des activités contre le virus de l'hépatite C [299, 429-431]. L'astragaline (**43**) s'est avéré actif contre le cytomégalo virus (HHV-5) avec un EC_{50} de $80 \mu M$. La fièvre catarrhale, ou maladie de la langue bleue, touche les ruminants sauvages et domestiques et se transmet par le virus BTV. L'isoquercétine (**44**) a pu inhiber sa prolifération avec un EC_{50} de $1,1 \pm 0,2 \mu M$ [432]. Le dernier pathogène d'intérêt est celui du chikungunya, transmis par le virus CHICKV. Cette maladie, communément appelée "maladie de l'homme courbée", induit des périodes de polyarthralgie et/ou de myalgie sévère [433]. Le chikungunya, après une forte épidémie dans les pays de l'océan Indien, semble s'étendre en Amérique [434] et même au Canada [435]. Bien avant ces vagues épidémiques, l'activité antivirale du 1,6-di-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**1078**) a été évaluée et s'est avérée intéressante avec une EC_{50} de $34 \mu M$ [436]. Dans la même étude, l'acide tannique (**1085**) était encore plus actif avec une EC_{50} de $48 nM$.

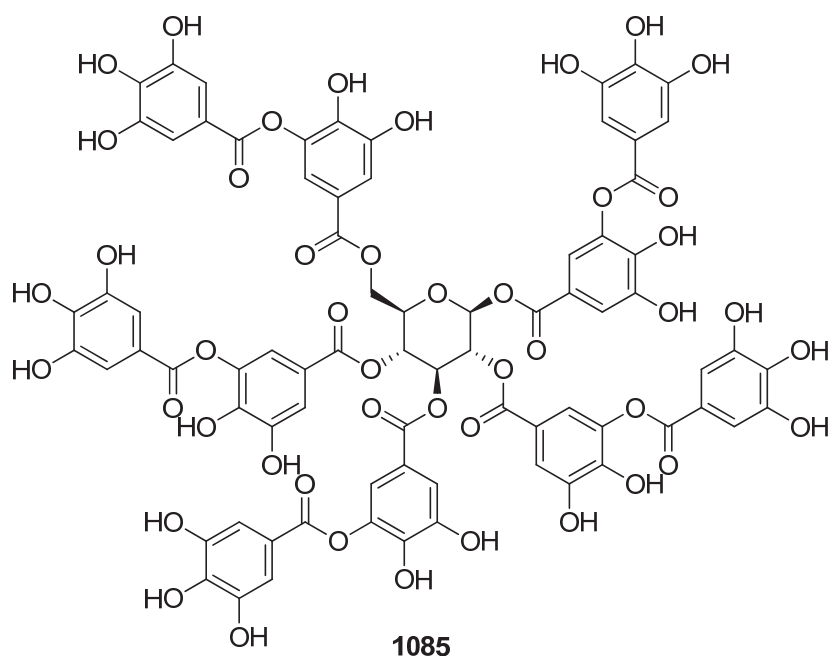


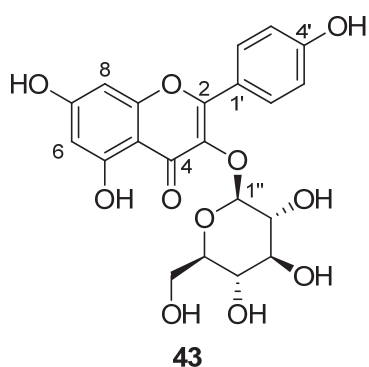
Figure 139 : Structure de l'acide tannique (**1085**)

Selon les travaux de Côté *et al.* [39], l'extrait de *C. canadensis* est très actif lorsque testé en mode réplication (voir figure 95). Bien que de faibles activités aient été observées dans ce mode avec les extraits de ces travaux (tableau 49, p. 315), les résultats de Côté n'ont pas été reproduits. Pour cette raison, une série de cueillette échelonnée dans le temps et le territoire a été effectuée afin de vérifier si l'activité biologique en mode réplication ne serait pas spécifique. Malheureusement, un seul échantillon s'est avéré actif en mode réplication (#15, tableau 65, p. 367). Par ailleurs, une diminution du rendement d'extraction ainsi qu'une diminution de l'activité antivirale en mode direct ont été observées. Il faut cependant être très prudent quant à l'interprétation de ces résultats étant donné leur très grande variabilité.

L'analyse statistique des chromatogrammes HPLC a permis d'identifier des composés qui présentent des concentrations différentes dans les racines ou les parties aériennes. Ces composés sont des tannins selon leur spectre UV. La concentration d'autres composés, probablement des dérivés de l'acide caféique, selon leur spectre UV et leur temps de rétention, augmente dans la partie aérienne au cours de la saison. Malheureusement, étant donné l'absence de données de spectrométrie de masse, aucune de ces molécules n'a pu être identifiée formellement (sauf les composés **965** et **259**). Également, le plan expérimental a été modifié en cours de route rendant les analyses statistiques

difficiles. Il faudra, dans un avenir rapproché, prévoir une récolte systématique de racines et de parties aériennes durant toute la saison de croissance. Il sera toutefois inutile d'extraire ces échantillons sans séchage puisqu'aucune différence significative dans la composition et l'activité biologique n'a été observée.

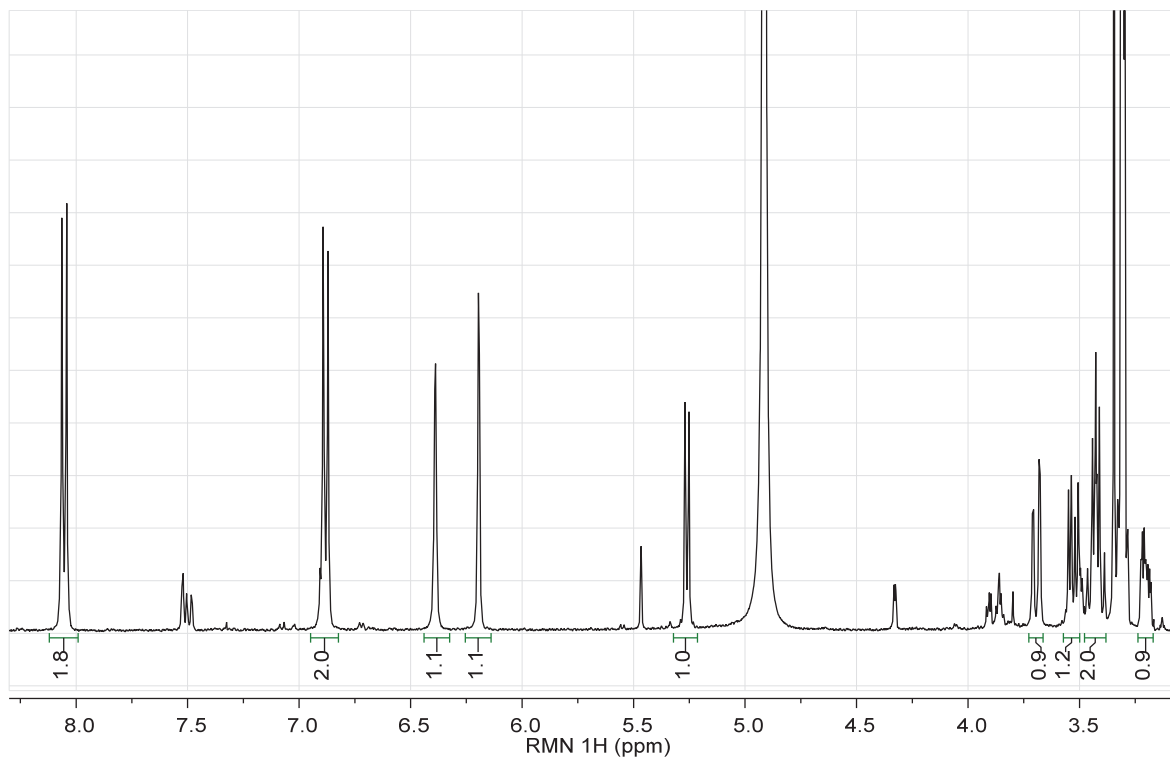
ANNEXE I : INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

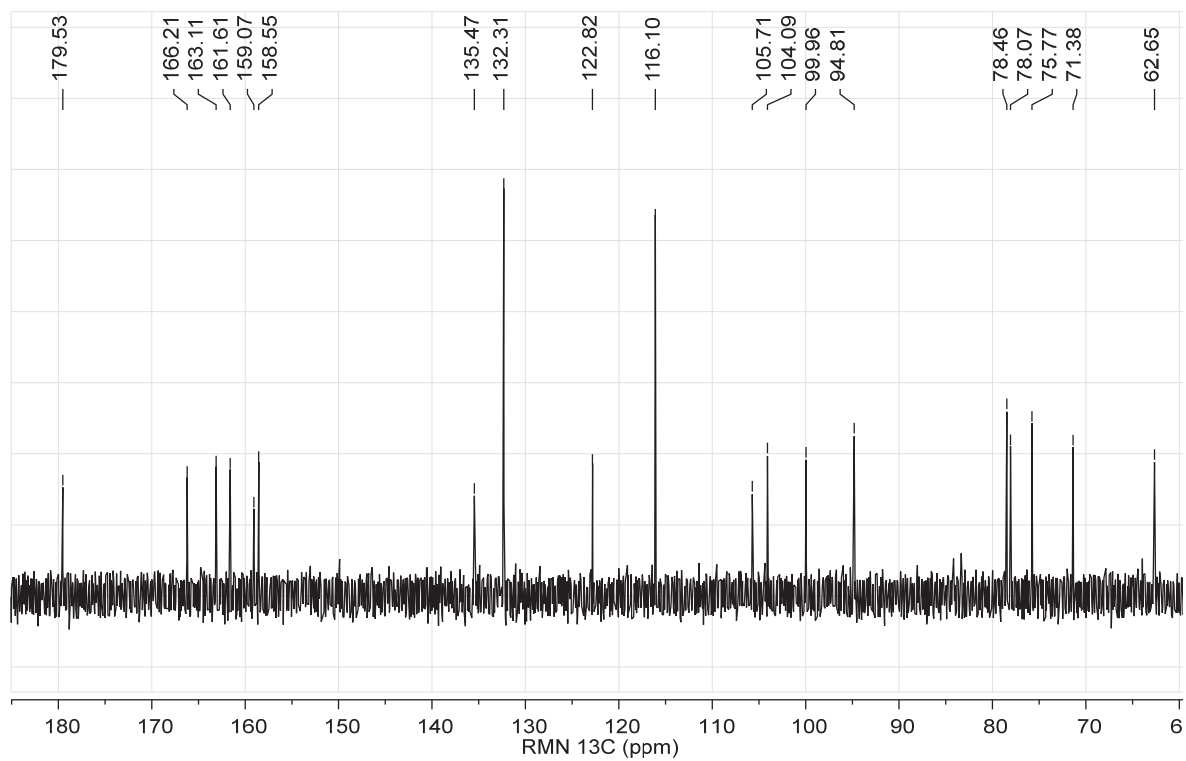
Spectres du composé **43**Données de la littérature

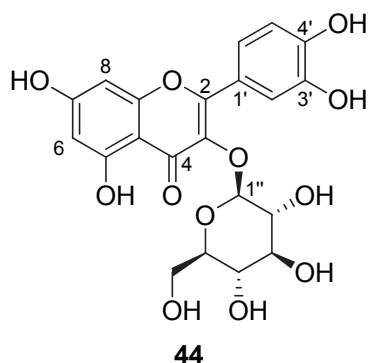
$[\alpha]_D^{25} = -23,0^\circ$ ($c = 0,25$, MeOH/H₂O 1:1) [437].

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) 8,03 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-2',6'), 6,86 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-3',5'), 6,35 (1H, d, $J = 1,4$ Hz, H-8), 6,16 (1H, d, $J = 1,4$ Hz, H-6), 5,22 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H-1''), 3,21-3,48 (4H, m, H-2'', H-3'', H-4'', H-5''), 3,69 (1H, dd, $J = 12,0, 2,2$ Hz, H-6a''), 3,53 (1H, dd, $J = 12,0, 5,4$ Hz, H-6b'') [384].

RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) 179,2 (C-4), 165,7 (C-7), 162,7 (C-5), 161,3 (C-4'), 158,8 (C-9), 158,2 (C-2), 135,3 (C-3), 132,2 (C-2', 6'), 122,6 (C-1'), 115,9 (C-3', 5'), 105,6 (C-10'), 104,0 (C-1''), 99,8 (C-6), 94,7 (C-8), 78,2 (C-3''), 77,9 (C-5''), 75,6 (C-2''), 71,2 (C-4''), 62,5 (C-6'') [384].

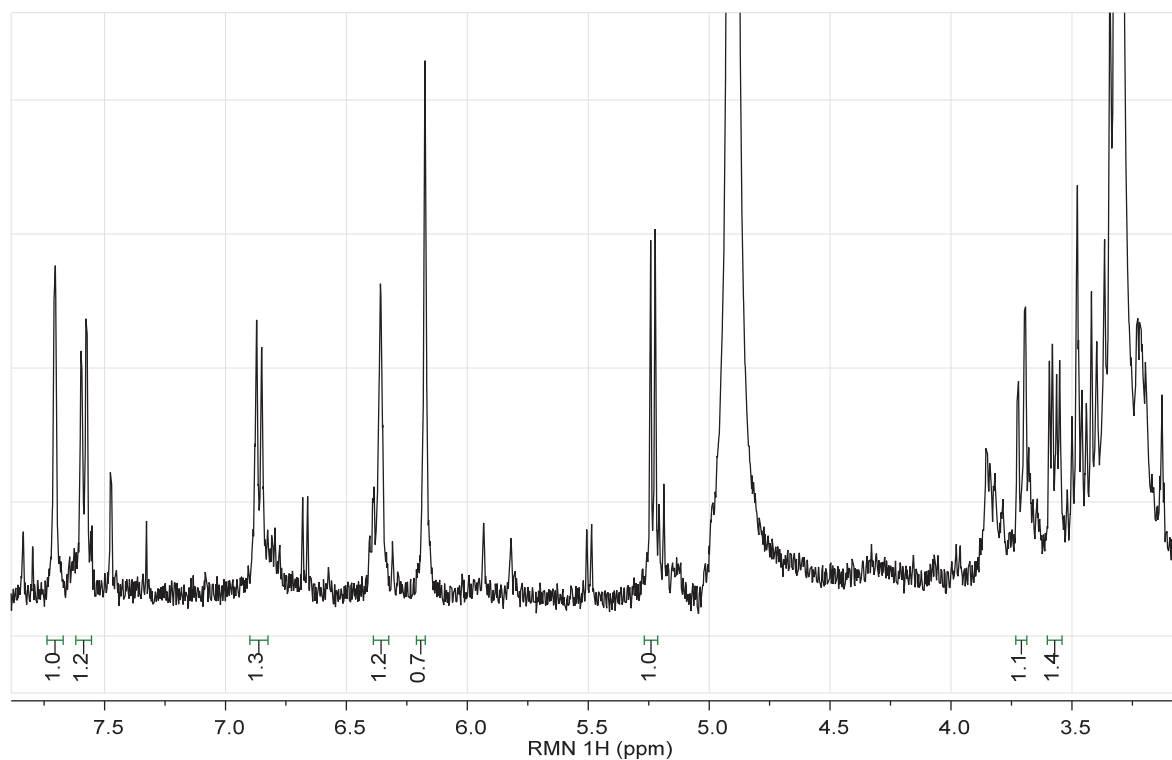


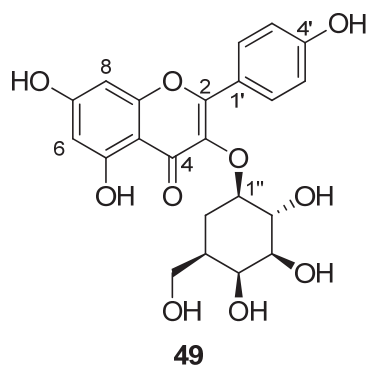


Spectres du composé **44**Données de Han *et al.* [384]. $[\alpha]_D^{25} = -12,5^\circ$ ($c = 0,9$, MeOH).

RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) 7,71 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-2'), 7,56 (1 H, dd, $J = 2,4, 8,6$ Hz, H-6'), 6,85 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, H-5'), 6,35 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 6,17 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 5,23 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H-1''), 3,22-3,51 (4H, m, H-2'', H-3'', H-4'', H-5''), 3,71 (1H, dd, $J = 12,0, 2,4$ Hz, H-6a''), 3,58 (1H, dd, $J = 12,0, 5,2$ Hz, H-6b'').

RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) 179,2 (C-4), 165,7 (C-7), 162,7 (C-5), 158,8 (C-9), 158,2 (C-2), 149,6 (C-4), 145,6 (C-3'), 135,4 (C-3), 123,1 (C-1'), 122,8 (C-6'), 117,4 (C-5), 115,8 (C-2'), 105,5 (C-10), 104,2 (C-1''), 99,8 (C-6), 94,6 (C-8), 78,2 (C-3''), 77,9 (C-5''), 75,6 (C-2''), 71,1 (C-4''), 62,4 (C-6'').

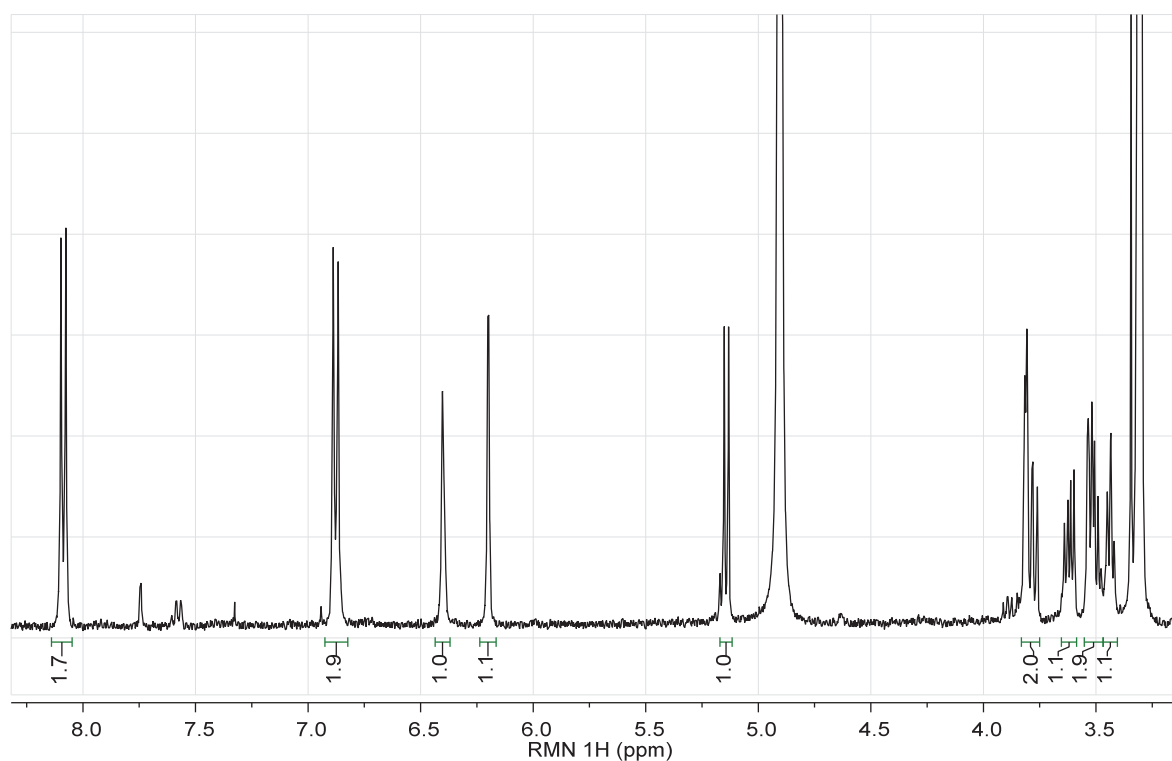


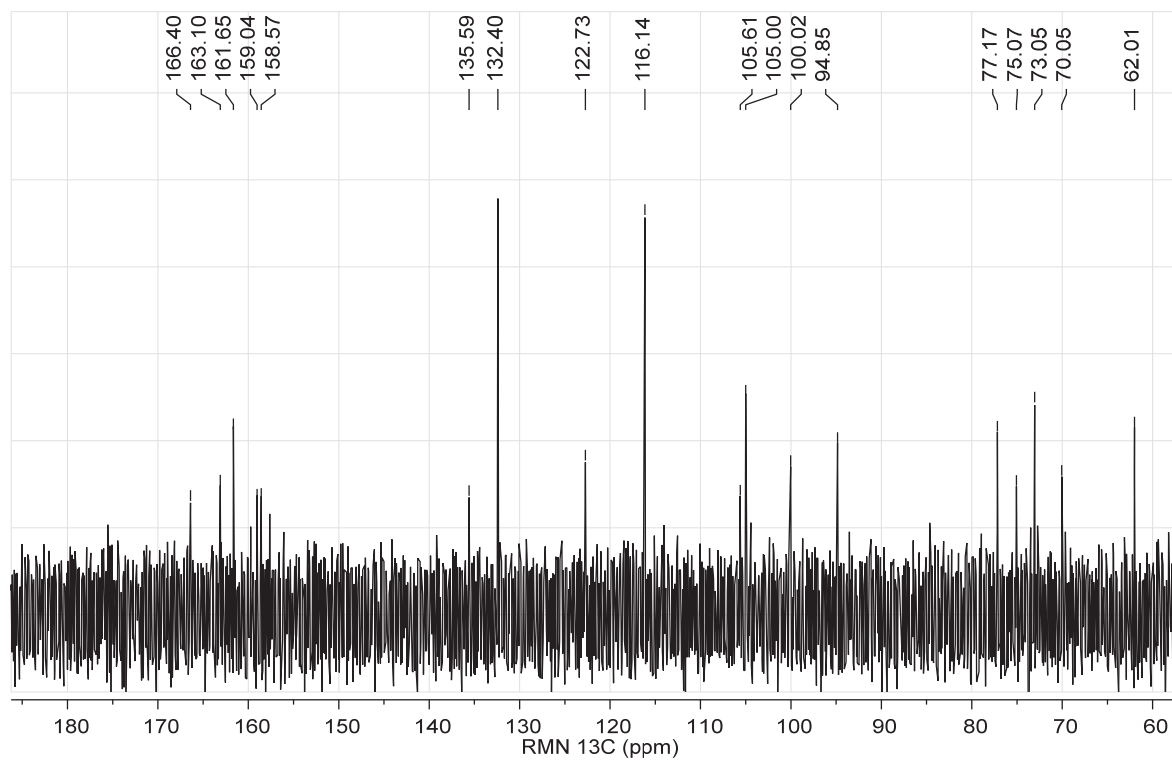
Spectres du composé **49**Données de la littérature

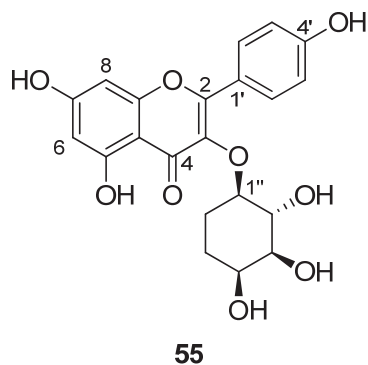
$[\alpha]_D^{30} = -8^\circ$ ($c = 0,1$, EtOH) [438].

RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) 8,09 (2H, d, H-2',6'), 6,88 (2H, d, H-3',5'), 6,42 (1H, d, H-8), 6,21 (1H, d, H-6'), 5,20 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1''), 3,81 (1H, dd, H-3''), 3,78 (1H, dd, C-2''), 3,62 (1H, dd, H-6a''), 3,50 (2H, m, H-6b'', H-3''), 3,43 (1H, dd, H-5'') [385].

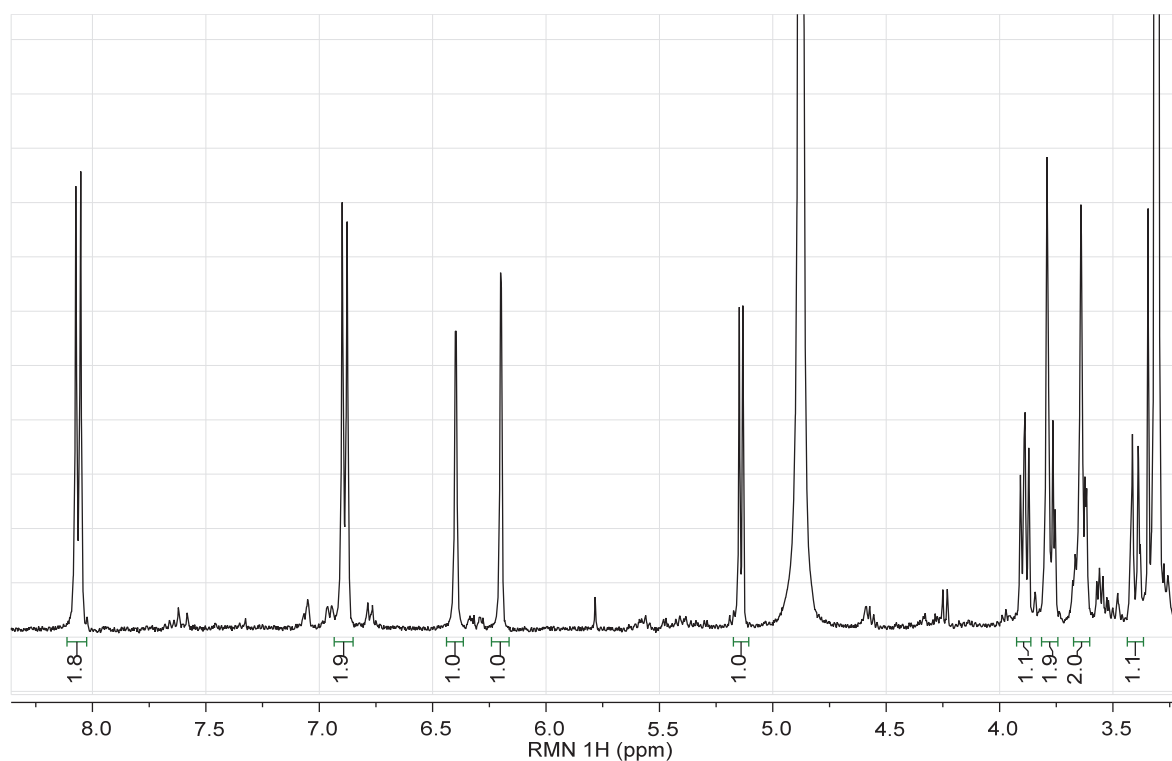
RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) 179,8 (C-4), 165,0 (C-7), 162,1 (C-5), 160,6 (C-4'), 158,0 (C-2), 157,5 (C-9), 134,6 (C-3), 131,1 (C-3',5'), 121,5 (C-1'), 114,9 (C-2',6'), 104,6 (C-10), 103,7 (C-1''), 98,8 (C-6), 93,5 (C-8), 75,8 (C-5''), 73,7 (C-3''), 71,7 (C-2''), 68,7 (C-4''), 60,6 (C-6'') [385]

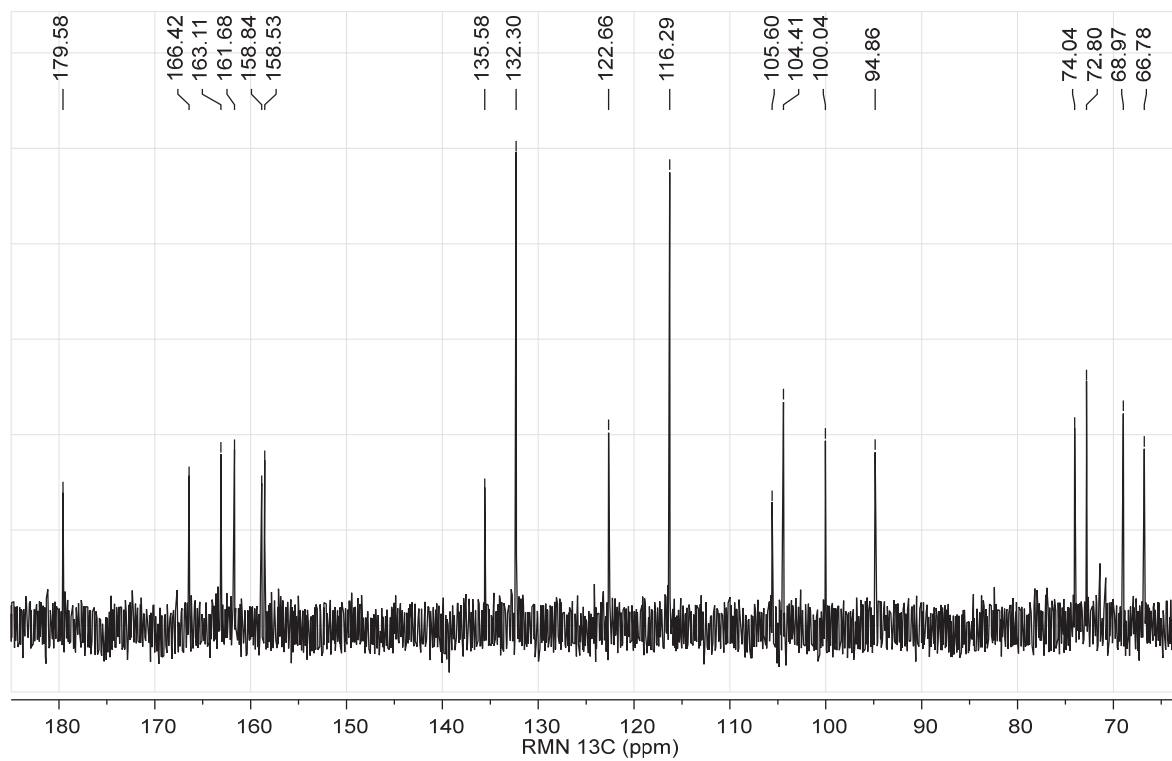


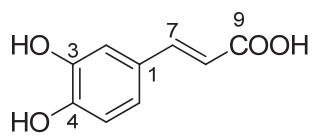


Spectres du composé **55**Données de Lin *et al.* [386]
 $[\alpha]_D^{25} = -1,0^\circ$ ($c = 0,2$, MeOH).

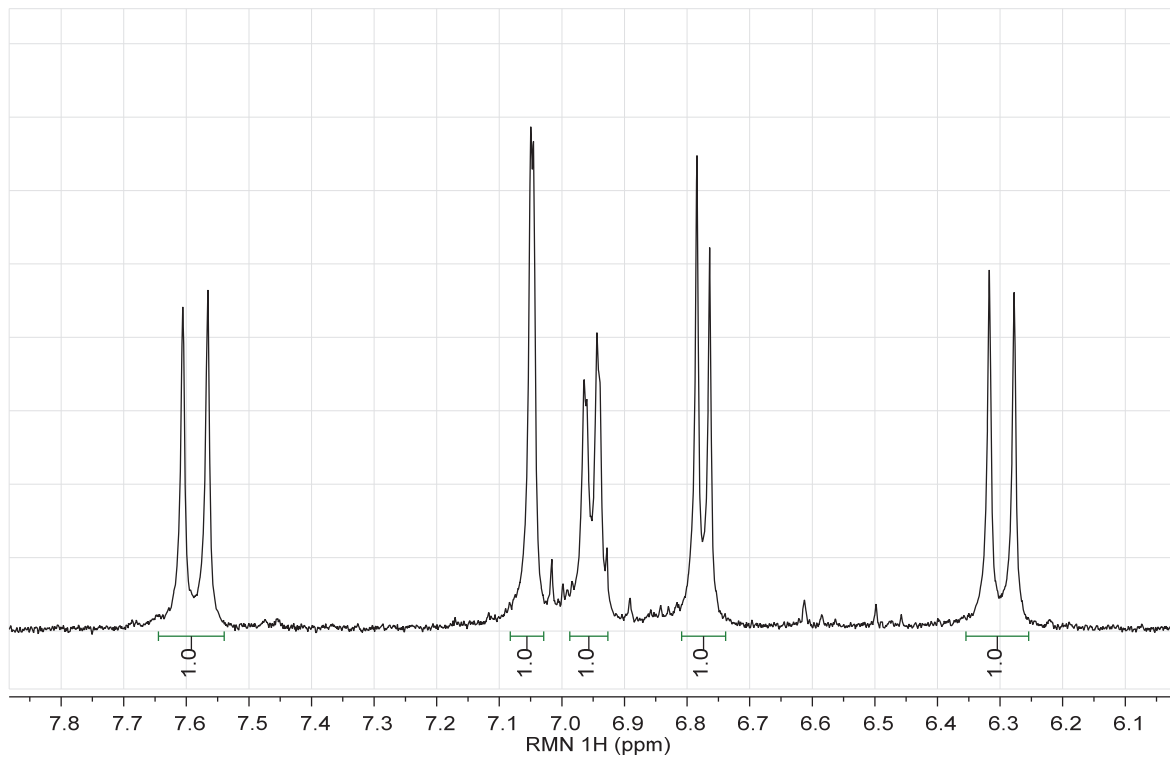
RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) : 8,06 (2H, d, $J = 8,9$ Hz, H-2',6'), 6,88 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-3',5'), 6,40 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 6,20 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 5,14 (1H, d, $J = 6,4$ Hz, H-1'), 3,88 (1H, dd, $J = 8,2, 6,4$ Hz, H-2''), 3,75 (2H, m, H-4'', H-5''), 3,62 (1H, dd, $J = 8,2, 3,0$ Hz, H-3''), 3,39 (2H, dd, $J = 13,3, 3,0$ Hz, H-5'').

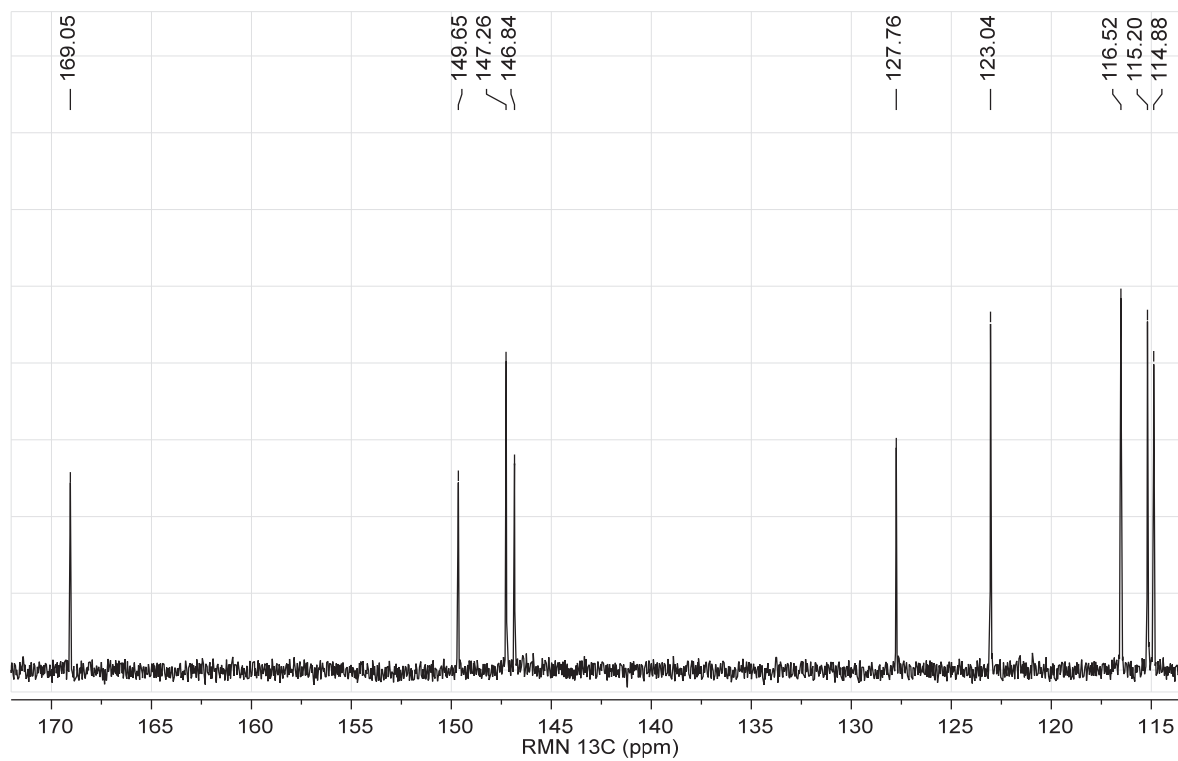


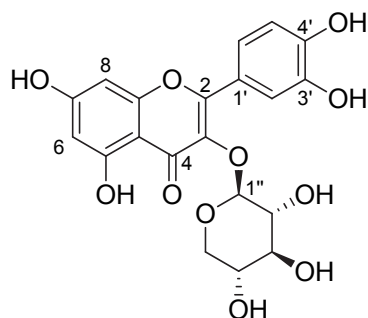


Spectres du composé **259****259**Données de Kelley *et al.* [401]

RMN ^{13}C (15 MHz, H_2O) 176,0 (C-9), 145,9 (C-4), 144,1 (C-3), 141,0 (C-7), 127,8 (C-1), 121,4 (C-6), 121,2 (C-8), 116,1 (C-5), 114,5 (C-2).

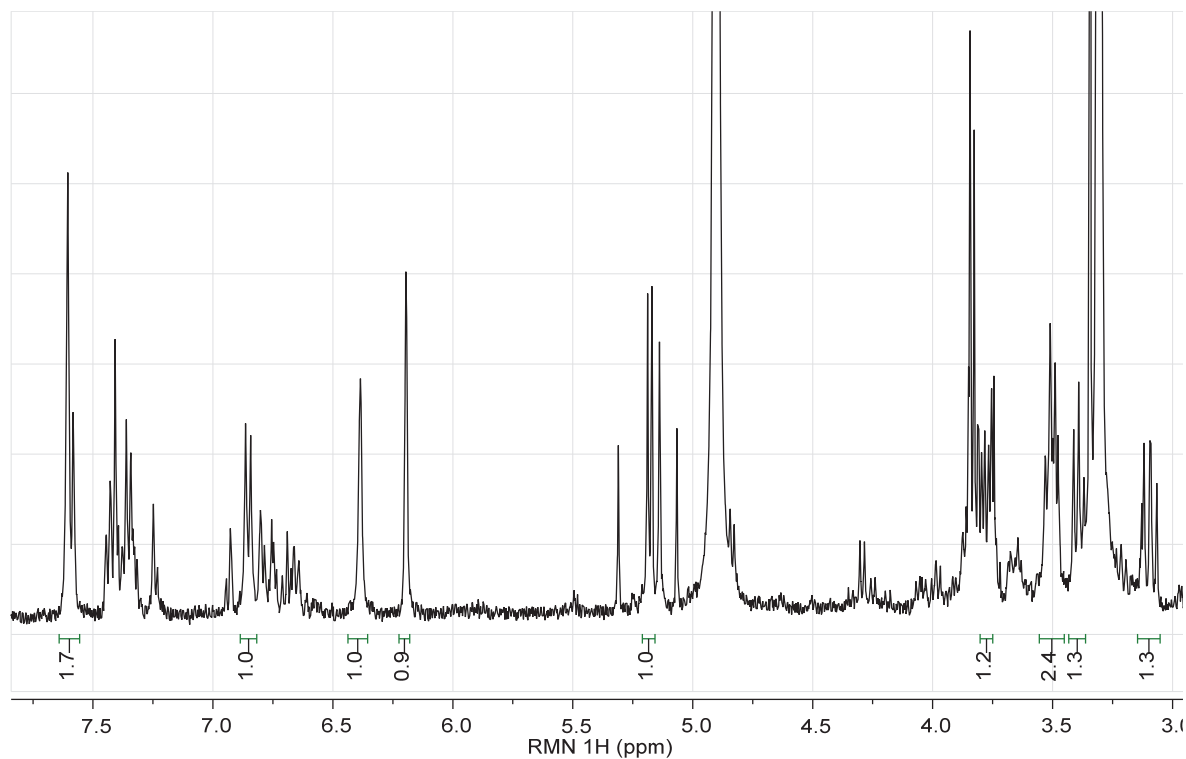


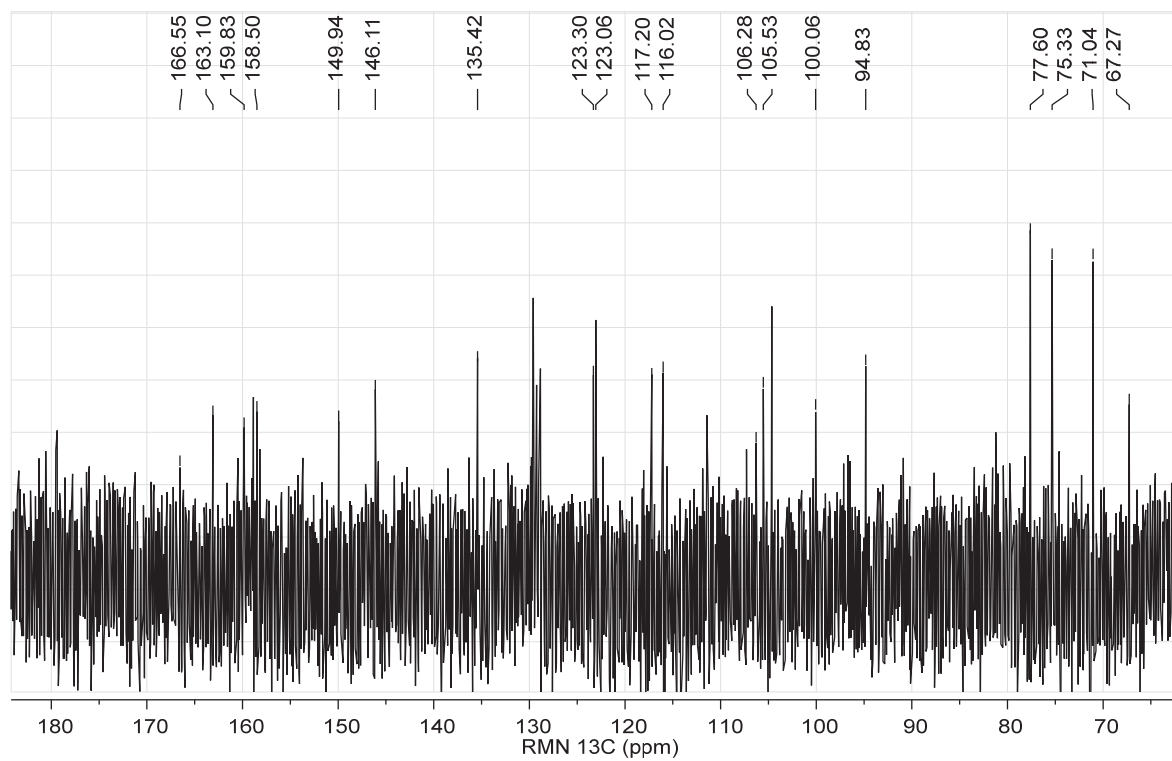


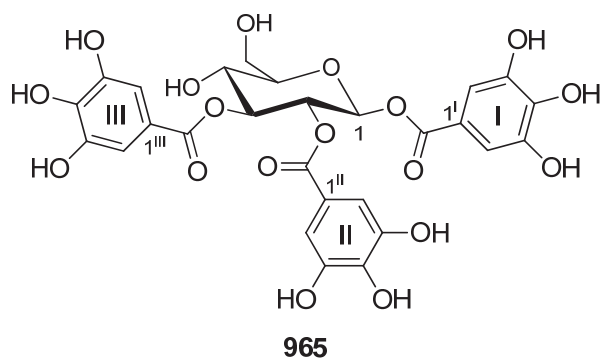
Spectres du composé **930****930**Données de Kadota *et al.* [389] $[\alpha]_D^{25} = -38,8^\circ$ ($c = 0,1$, MeOH).

RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) 7,61 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 7,59 (1H, dd, $J = 8,2, 2,0$ Hz, H-6'), 6,86 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5'), 6,39 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 6,20 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 5,16 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1''), 3,78 (1H, dd, $J = 11,0, 5,0$ Hz, H-4''), 3,52 (1H, dd, $J = 9,0, 7,5$ Hz, H-2''), 3,50 (1H, dd, $J = 8,5, 5,0$ Hz, H-5''b), 3,41 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5''a), 3,10 (1H, dd, $J = 11,0, 9,0$ Hz, H-3'').

RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) 180,14 (C-4), 166,91 (C-7), 163,81 (C-5), 159,68 (C-2), 159,20 (C-9), 150,65 (C-4'), 146,81 (C-3'), 136,20 (C-3), 124,06 (C-6'), 123,78 (C-1'), 117,98 (C-2'), 116,77 (C-5'), 106,39 (C-10), 105,40 (C-1''), 100,73 (C-6), 95,55 (C-8), 78,29 (C-3''), 76,00 (C-2''), 71,75 (C-4''), 67,97 (C-5'').





Spectres du composé **965**

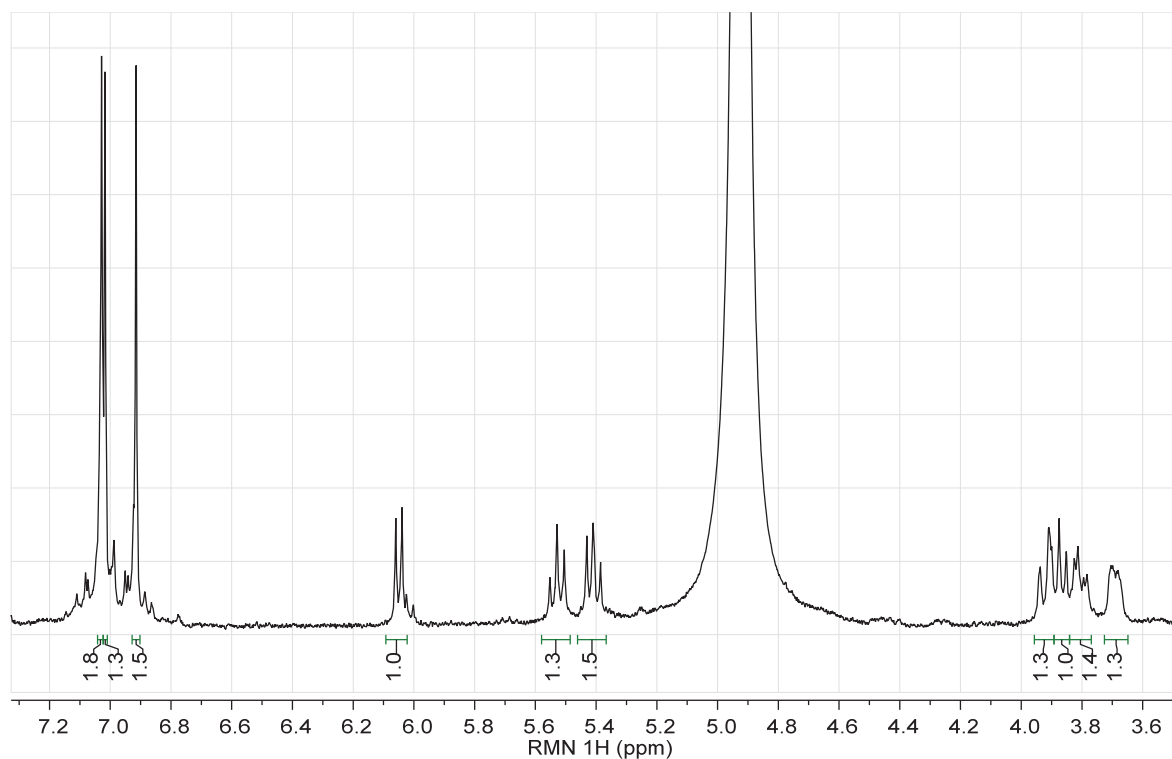
Données de la littérature

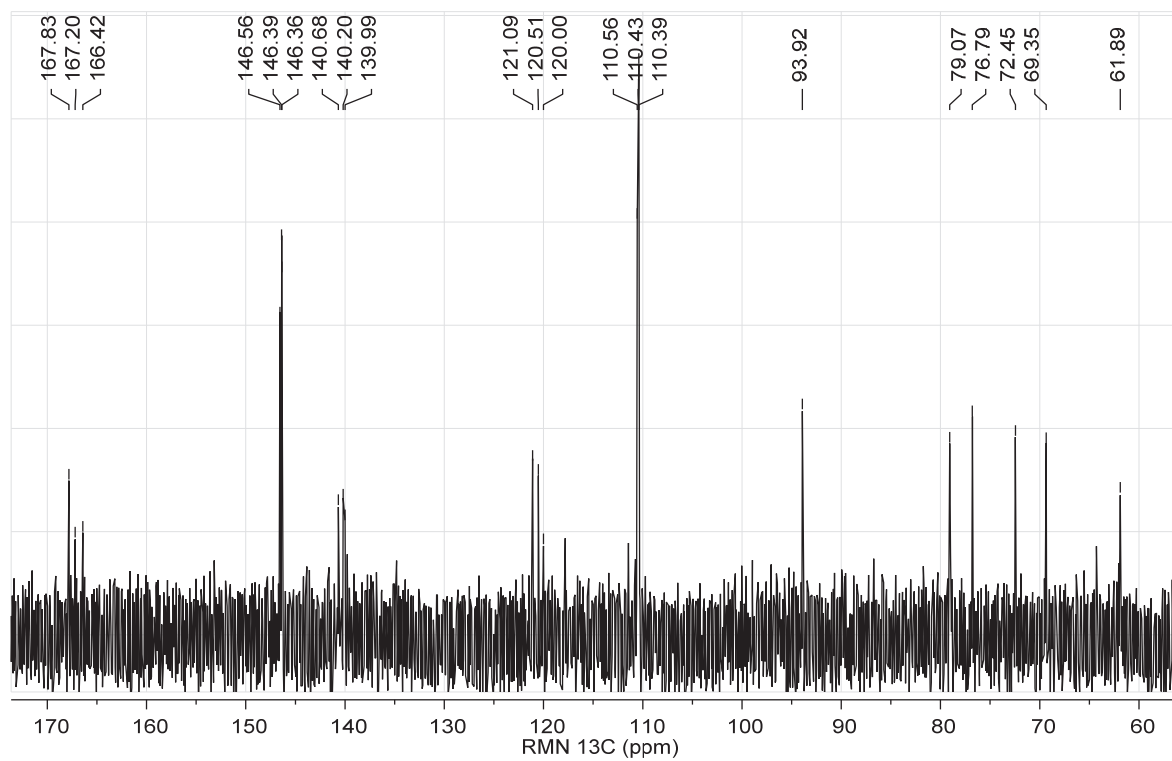
$[\alpha]_D^{25} = +43^\circ$ ($c = 1$, MeOH) [293].

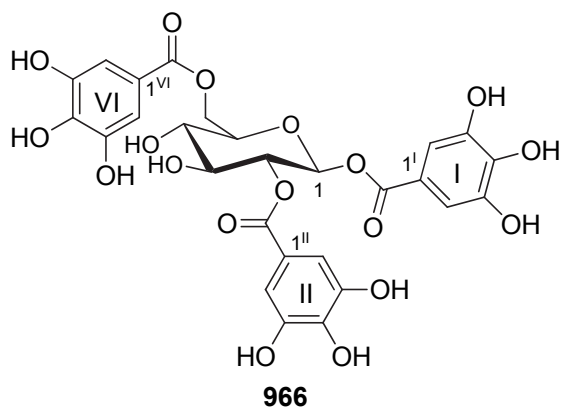
RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) 6,90 (2H, s, galloyl H-2,6), 7,01 (2H, s, galloyl H-2,6), 7,06 (2H, s, galloyl H-2,6), 6,04 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, H-1), 5,51 (1H, dd, $J = 9,6, 9,3$ Hz, H-3),

5,39 (1H, dd, $J = 9,3, 8,2$ Hz, H-2), 3,50-4,00 (4H, m, H-4, H-5, H-6) [394].

RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) 167,8, 167,2, 166,4 (C-7^{I-III}), 146,5, 146,4, 145,8 (C-3,5^{I-III}), 140,1 (3 \times , C-4^{I-III}), 121,4, 121,1, 120,4 (C-1^{I-III}), 110,4 (3 \times , C-2,6^{I-III}), 93,9 (C-1), 77,0 (C-5), 76,7 (C-3), 72,4 (C-2), 69,3 (C-4), 61,9 (C-6) [394].





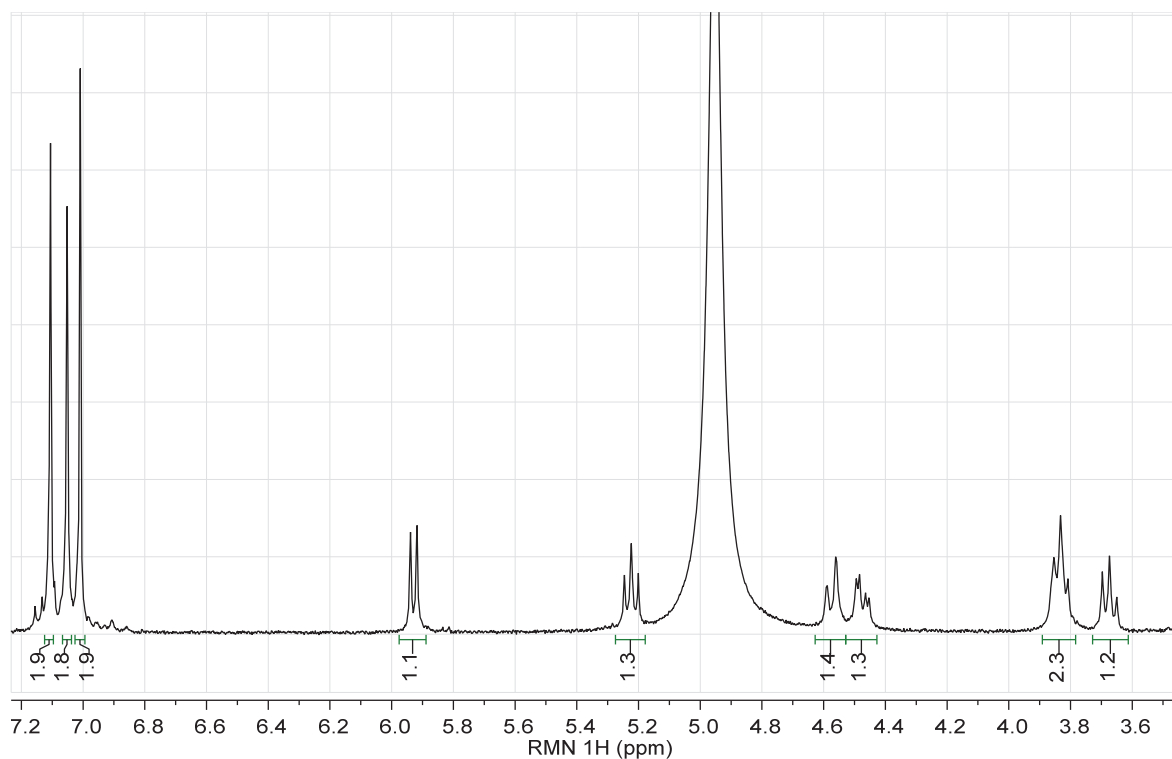
Spectres du composé **966**

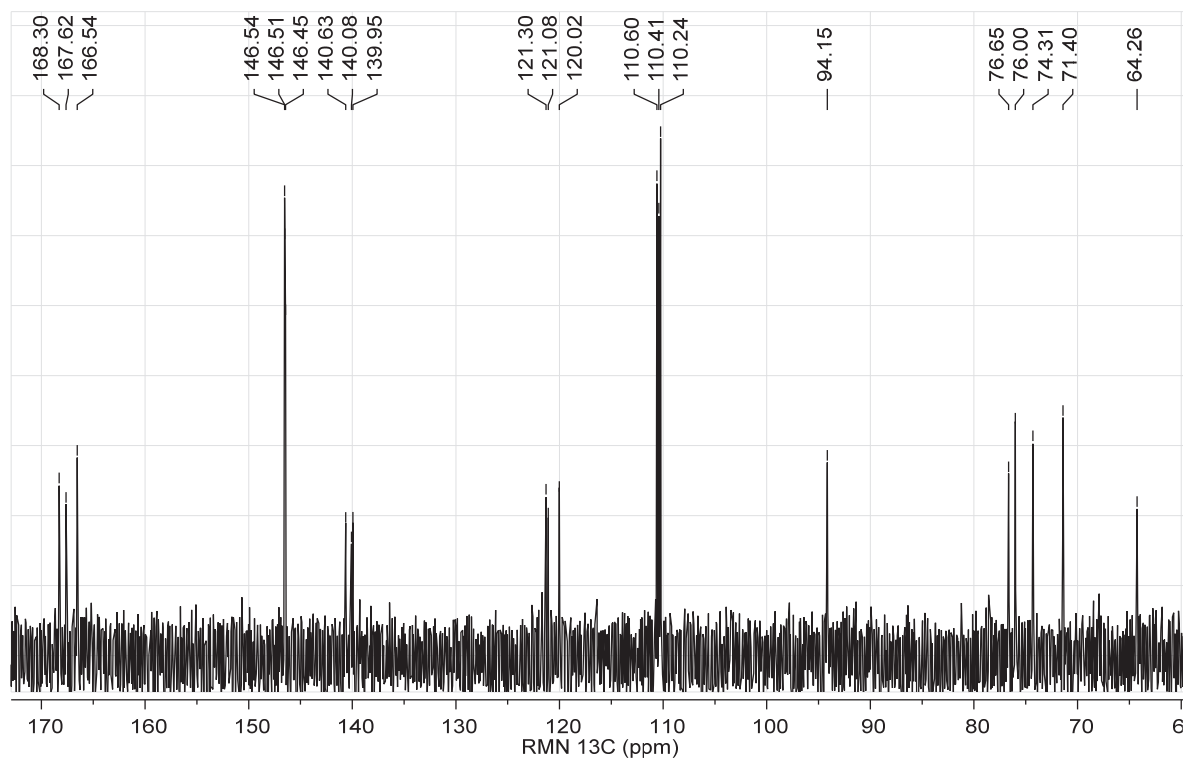
Données de la littérature

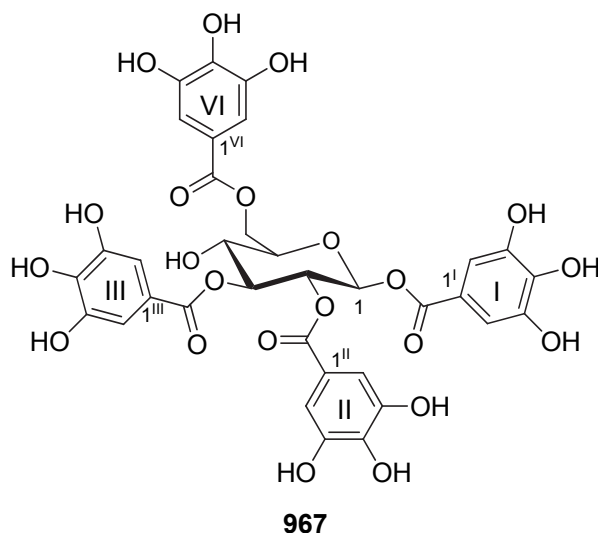
$[\alpha]_D^{25} = -94^\circ$ ($c = 0,1$, MeOH) [439].

RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) : 7,07 (2H, s), 7,02 (2H, s), 6,98 (2H, s), 5,89 (1H, d, $J = 8,8$ Hz), 5,19 (1H, t, $J = 8,8$ Hz), 4,54 (1H, d, $J = 10,8$ Hz), 4,44 (1H, dd, $J = 10,8, 4,0$ Hz), 3,80 (1H, dd, $J = 8,8, 4,0$ Hz), 3,64 (1H, t, $J = 8,8$ Hz) [395].

RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) 167,0 (s), 166,4 (s), 165,3 (s), 145,3 (s), 145,25 (s), 145,2 (s), 139,4 (s), 138,9 (s), 138,7 (s), 120,0 (s), 119,8 (s), 118,7 (s), 109,3 (d), 109,1 (d), 109,0 (d), 92,9 (d), 75,4 (d), 74,7 (d), 73,0 (d), 70,0 (d), 63,0 (t) [395].





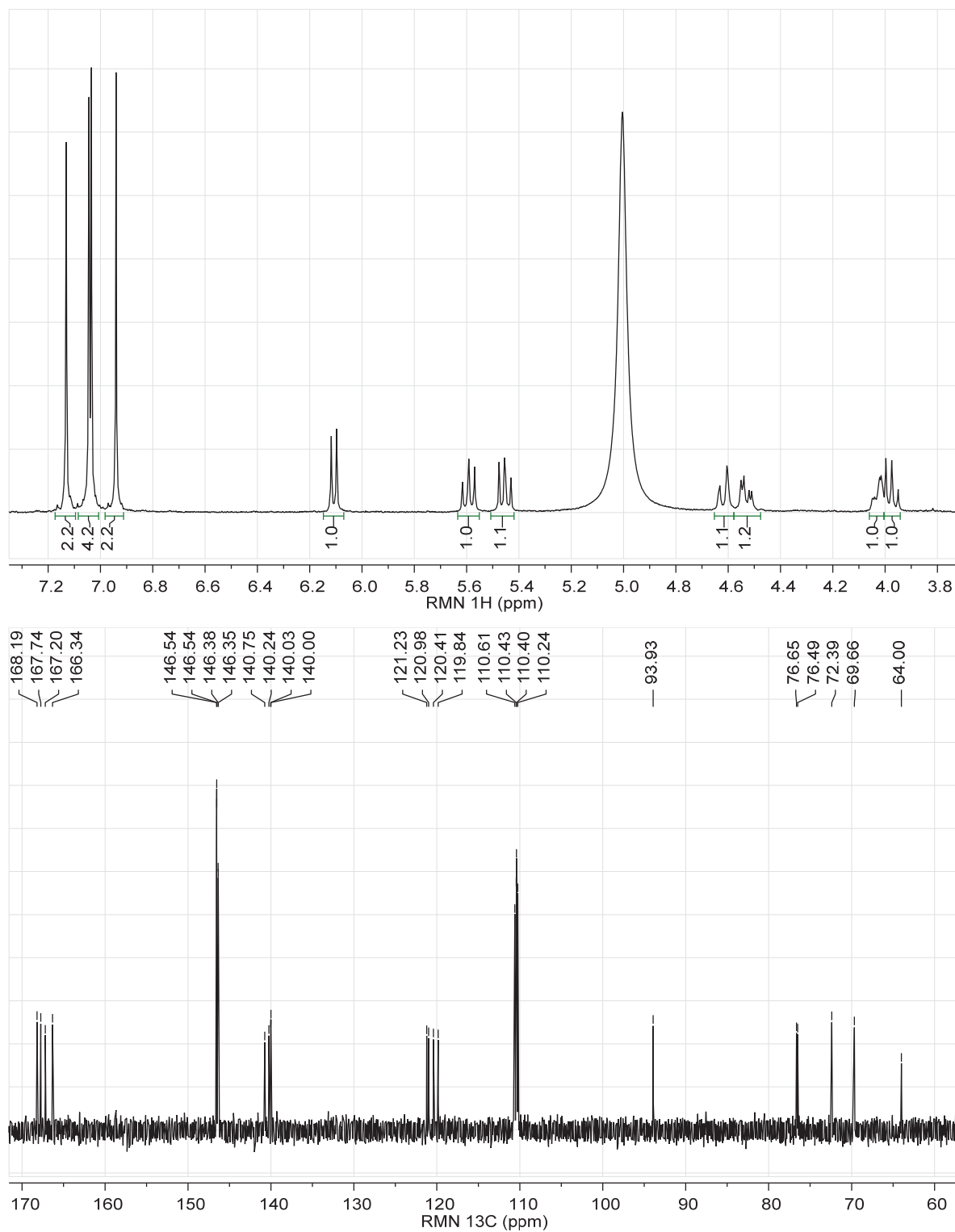
Spectres du composé 967Données de la littérature

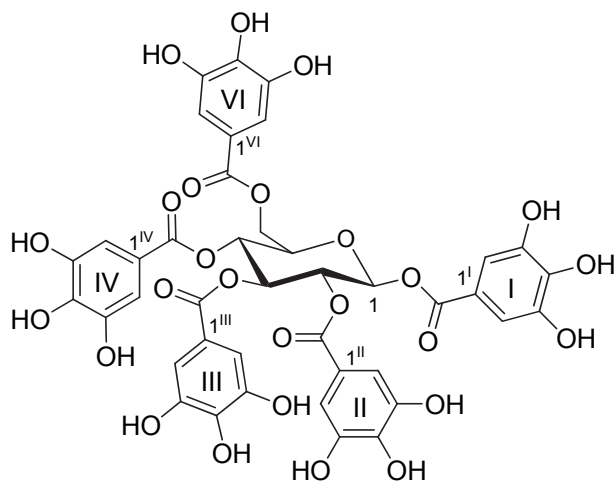
$[\alpha]_D^{25} = +32,4^\circ$ ($c = 0,85$, MeOH) [440].

RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) 7,12 (2H, s, H-2,6^{VI}), 7,04 (2H, s, H-2,6^{III}), 7,03 (2H, s, H-2,6^I), 6,93 (2H, s, H-2,6^{II}), 6,09 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-1), 5,58 (1H, dd, $J = 9,9, 8,9$ Hz, H-3), 5,44 (1H, dd, $J = 9,9, 8,3$ Hz, H-2), 4,61 (1H, dd, $J = 12,2, 2,0$ Hz, H-6b), 4,52 (1H, dd, $J = 12,2, 4,5$ Hz, H-6a), 4,02 (1H, ddd, $J = 9,9, 4,5, 2,0$ Hz, H-5), 3,96 (1H, dd, $J = 9,9, 8,9$ Hz, H-

4) [396].

RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) 168,24 (C-7^{VI}), 167,79 (C-7^{III}), 167,24 (C-7^{II}), 166,38 (C-7^I), 146,58 (C-3,5^{VI}), 146,56 (C-3,5^I), 146,41 (C-3,5^{III}), 146,39 (C-3,5^{II}), 140,73 (C-4^I), 140,25 (C-4^{II}), 140,03 (C-4^{III}), 140,01 (C-4^{VI}), 121,31 (C-1^{VI}), 121,07 (C-1^{III}), 120,50 (C-1^{II}), 119,94 (C-1^I), 110,67 (C-2,6^I), 110,50 (C-2,6^{III}), 110,46 (C-2,6^{II}), 110,31 (C-2,6^{VI}), 93,98 (C-1), 76,70 (C-5), 76,55 (C-3), 72,44 (C-2), 69,72 (C-4), 64,06 (C-6) [396].

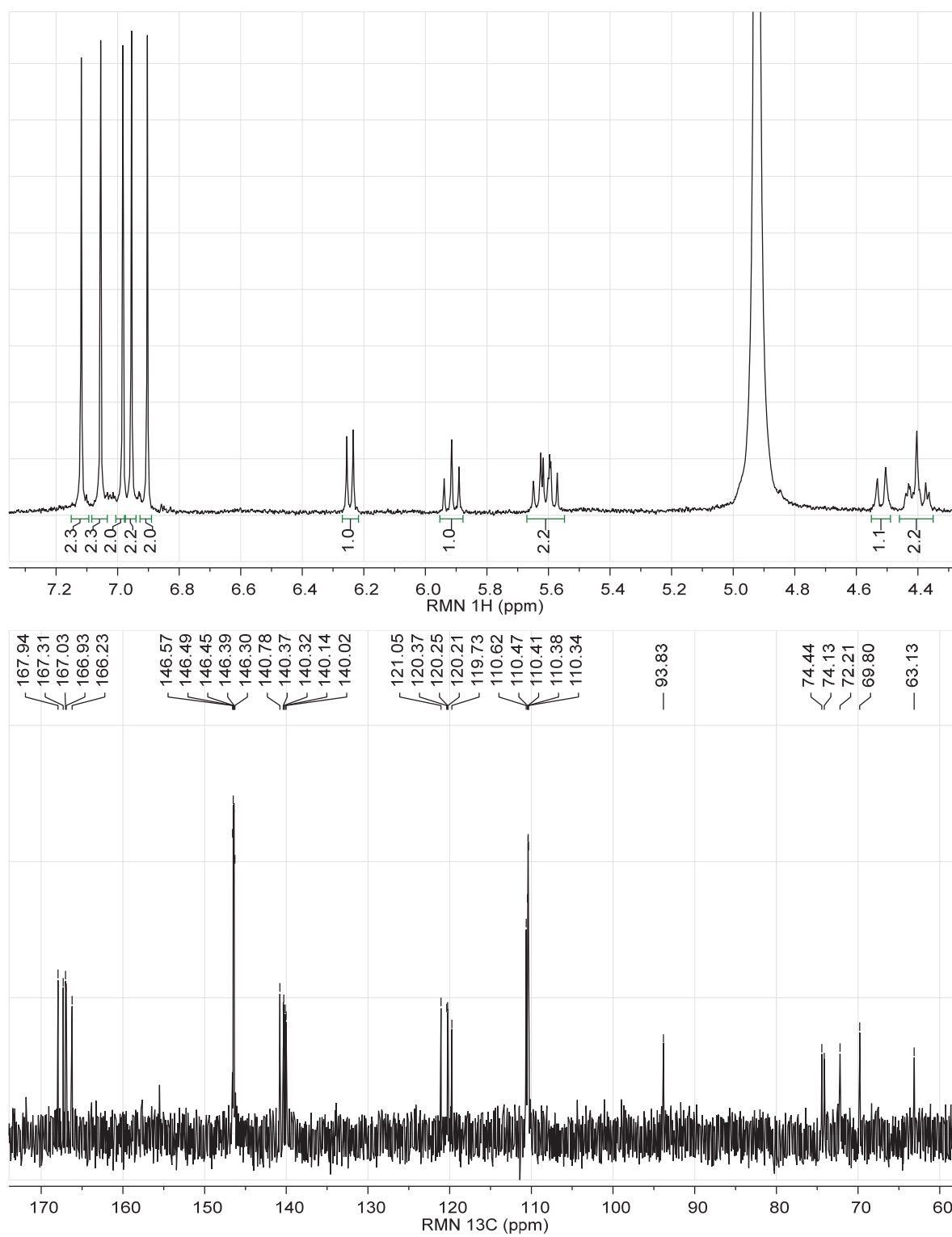


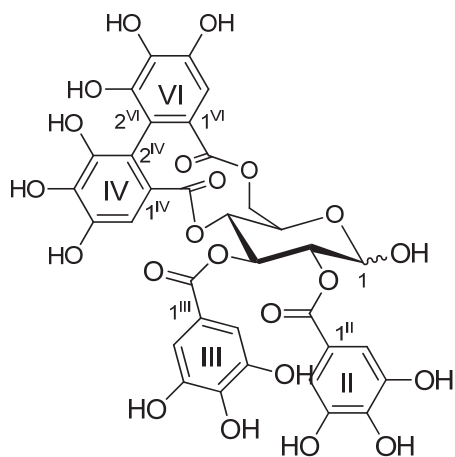
Spectres du composé 970**970**Données de la littérature

$[\alpha]_D^{20} = +44,4^\circ$ ($c = 2,9$, MeOH) [441].

RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) 7,10, 7,04, 6,97, 6,94, 6,89 (10H, s, H-2,6^{I-VI}), 6,23 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-1), 5,90 (1H, t, $J = 9,0$ Hz, H-3), 5,57 (1H, t, $J = 9,0$ Hz, H-2), 5,60 (1H, t, $J = 9,0$ Hz, H-4), 4,51 (1H, d, $J = 10,2$ Hz, H-6b), 4,41 (1H, m, H-5), 4,35 (1H, dd, $J = 10,2, 4,5$ Hz, H-6a) [397].

RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) 168,09, 167,46, 167,18, 167,08, 166,38 ($5 \times \text{C-7}^{\text{I-VI}}$), 146,70, 146,62, 146,58, 146,52, 146,43 ($5 \times \text{C-3,5}^{\text{I-VI}}$), 140,92, 140,51, 140,45, 140,28, 140,16, ($5 \times \text{C-4}^{\text{I-VI}}$), 121,22, 120,53, 120,41, 120,38, 119,90, ($5 \times \text{C-1}^{\text{I-VI}}$), 110,80, 110,64, 110,59, 110,56, 110,51 ($5 \times \text{C-2,6}^{\text{I-VI}}$), 94,0 (C-1), 74,6 (C-5), 74,3 (C-3), 72,4 (C-2), 70,0 (C-4), 63,3 (C-1) [397].

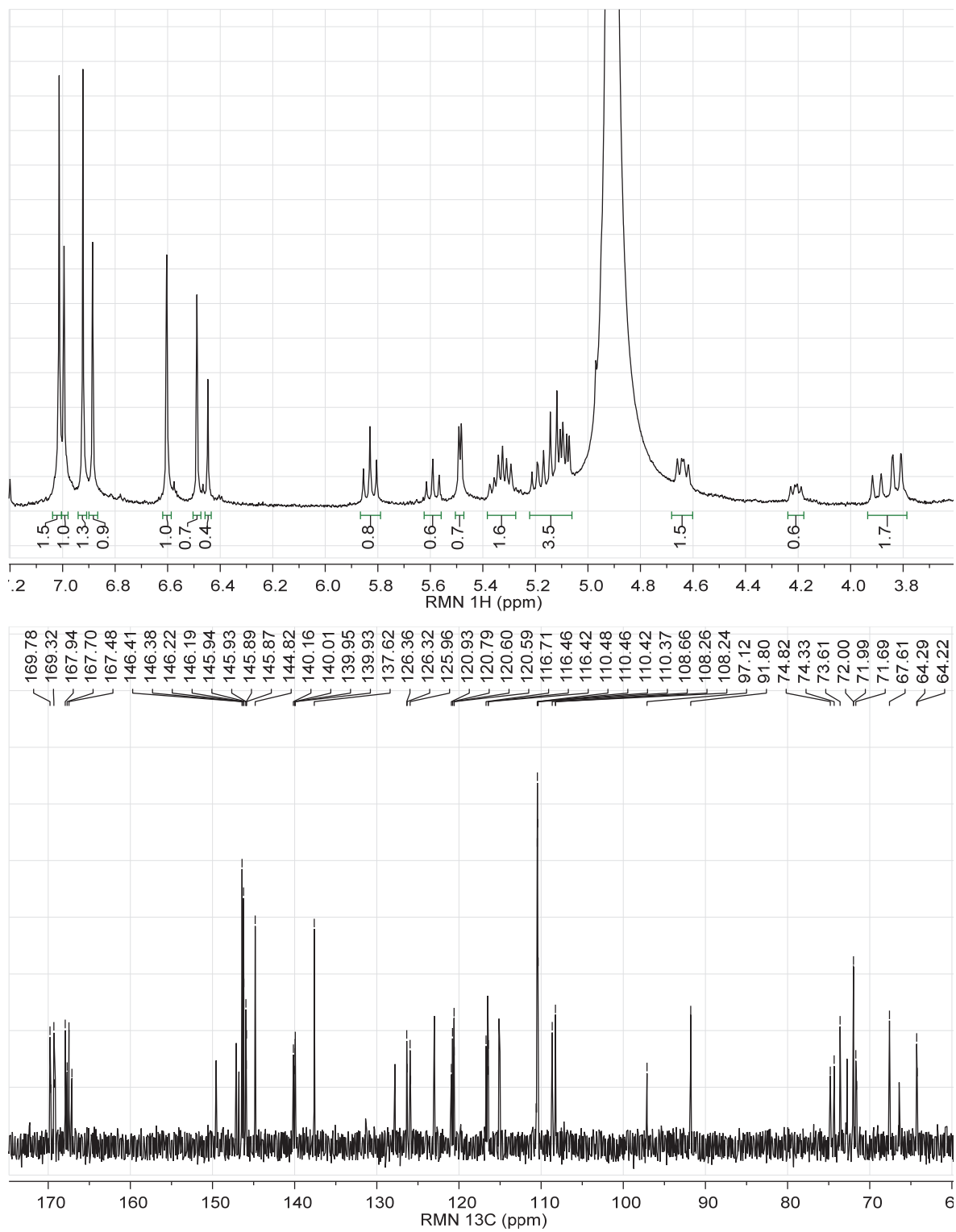


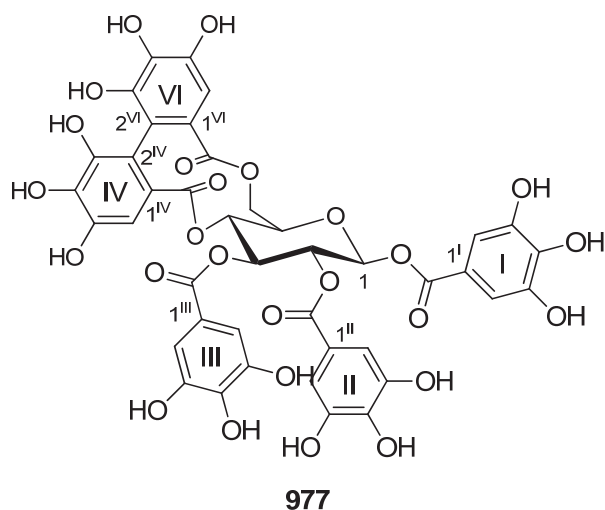
Spectres du composé 976**976**Données de la littérature [400]

$[\alpha]_D^{20} = +139,8^\circ$ ($c = 0,25$, acétone) [442].

RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) 7,02, 7,00, 6,93, 6,89 (8H, s, H-2,6^{II,III}, α , β), 6,62, 6,62, 6,50, 6,46 (4H, s, H-6^{IV,VI}, α , β), 5,83 (1H, dd, $J = 10,2, 9,6$ Hz, H-3 α), 5,59 (1H, dd, $J = 9,6, 9,6$ Hz, H-3 β), 5,49 (1H, d, $J = 3,6$ Hz, H-1 α), 5,34 (1H, dd, $J = 12,6, 6,0$ Hz, H-6 β), 5,30 (1H, dd, $J = 12,6, 6,0$ Hz, H-6 α), 5,19 (1H, dd, $J = 9,6, 7,8$ Hz, H-2 β), 5,05-5,15 (3H, m, H-2 α , H-4 α , H-4 β), 4,97 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1 β), 4,64 (1H, dd, $J = 10,2, 6,0$ Hz, H-5 α), 4,21 (1H, dd, $J = 9,6, 6,0$ Hz, H-5 β), 3,89 (1H, d, $J = 12,6$ Hz, H-6' β), 3,83 (1H, d, $J = 12,6$ Hz, H-6' α) [400].

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) 97,16 (C-1 β), 91,84 (C-1 α), 74,87 (C-2 β), 74,39 (C-3 β), 73,64 (C-2 α), 73,33 (C-5 β), 72,81 (C-4 β), 72,06 (C-4 α), 72,02 (C-3 α), 71,73 (C-5 α), 67,65 (C-6 α), 64,39 (C-6 β) [400].

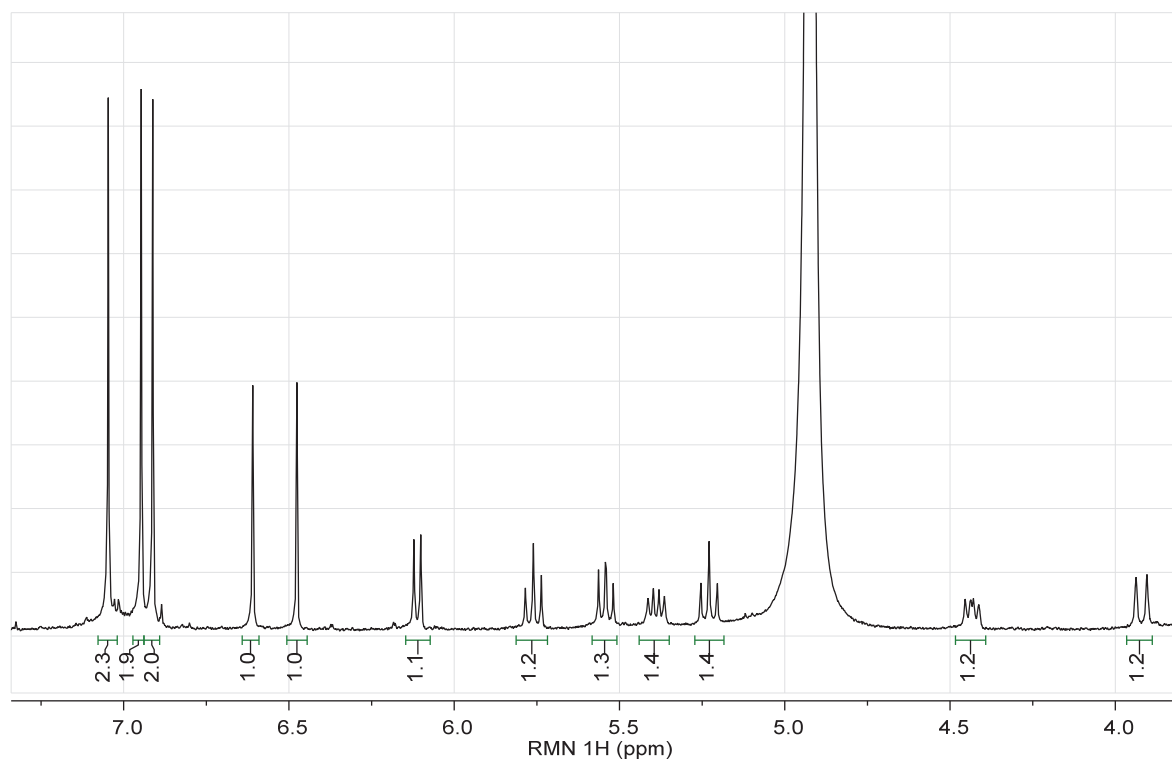


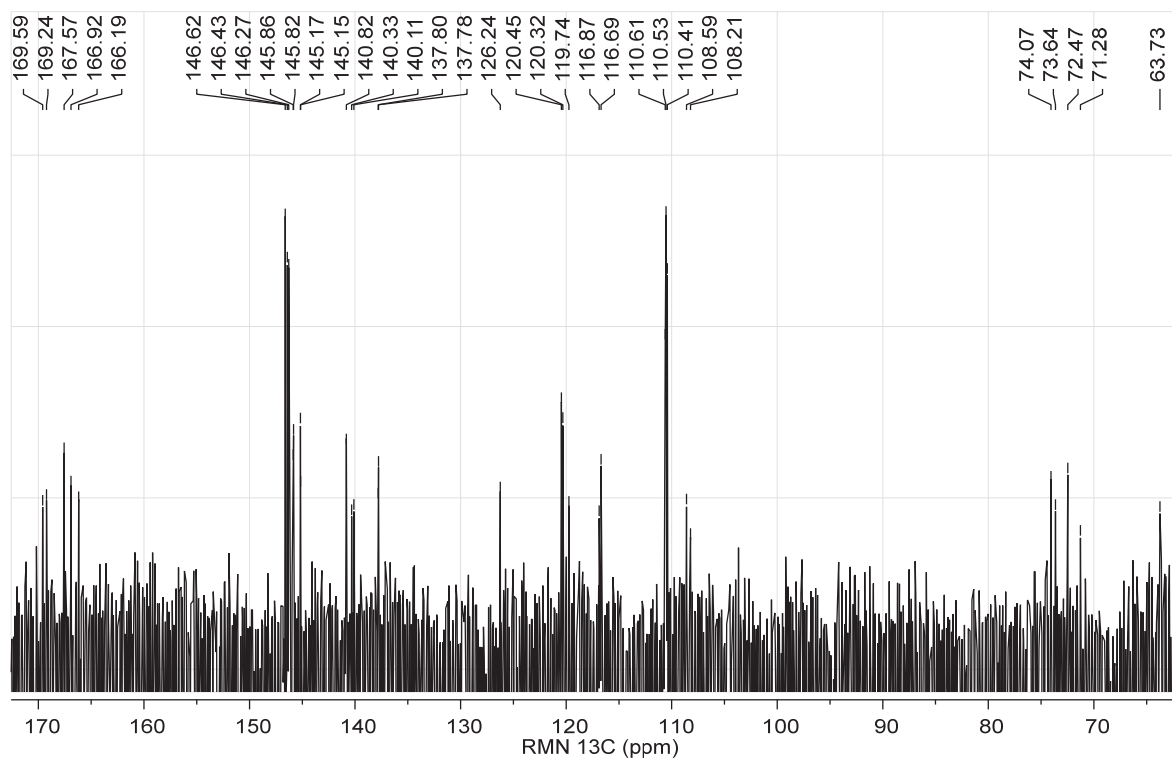
Spectres du composé 977Données de la littérature

$[\alpha]_D^{20} = +10^\circ$ ($c = 0,85$, MeOH) [443].

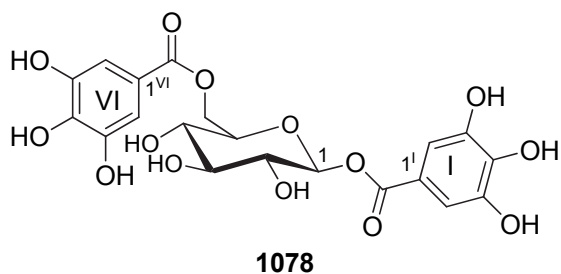
RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) 7,07, 6,98, 6,94 (6H, s, H-2,6^{I-III}), 6,11 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-1), 5,77 (1H, dd, $J = 9,6, 9,6$ Hz, H-3), 5,55 (1H, dd, $J = 9,0, 8,4$ Hz, H-2), 5,36 (1H, dd, $J = 13,2, 6,6$ Hz, H-6), 5,23 (1H, dd, $J = 10,2, 9,6$ Hz, H-4), 4,44 (1H, dd, $J = 9,6, 6,6$ Hz, H-5), 3,94 (1H, d, $J = 13,2$ Hz, H-6) [400].

RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) 168,36, 167,87, 166,35, 165,71, 164,99 (C-7^{I-VI}), 92,81 (C-1), 72,69 (C-3), 72,20 (C-5), 71,09 (C-2), 69,95 (C-4), 62,49 (C-6) [400].





Spectres du composé **1078**

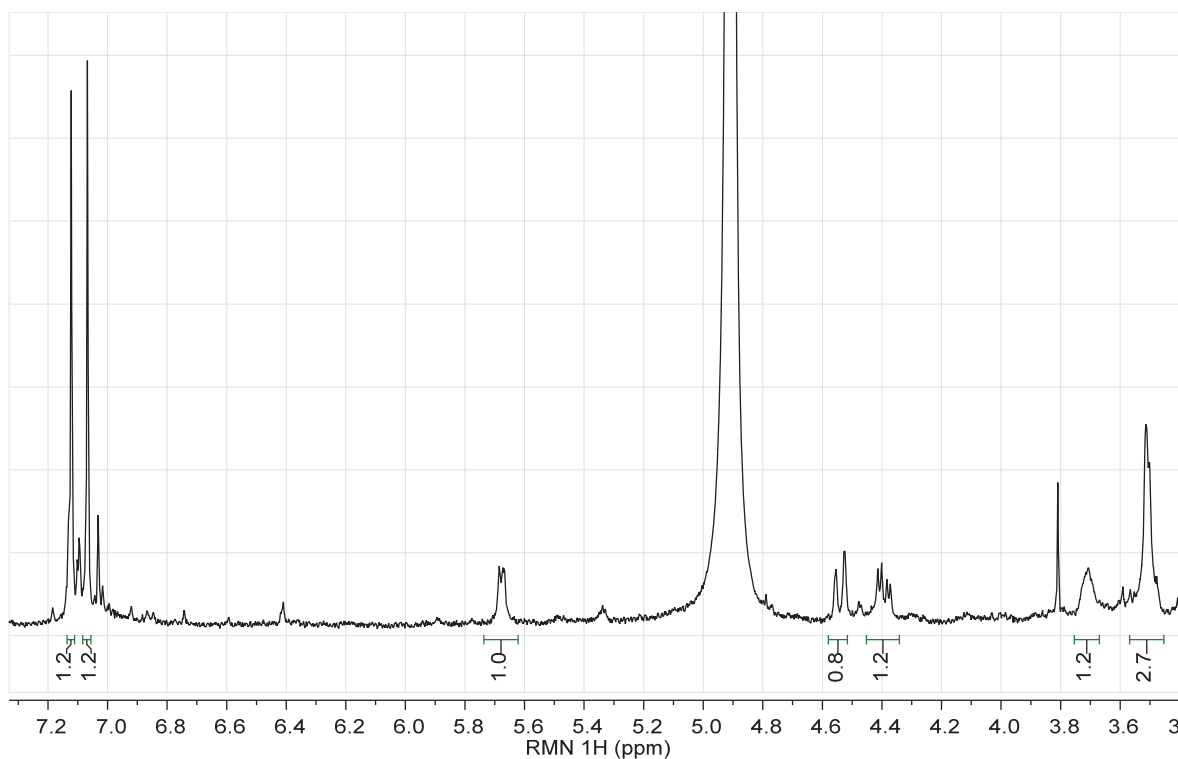


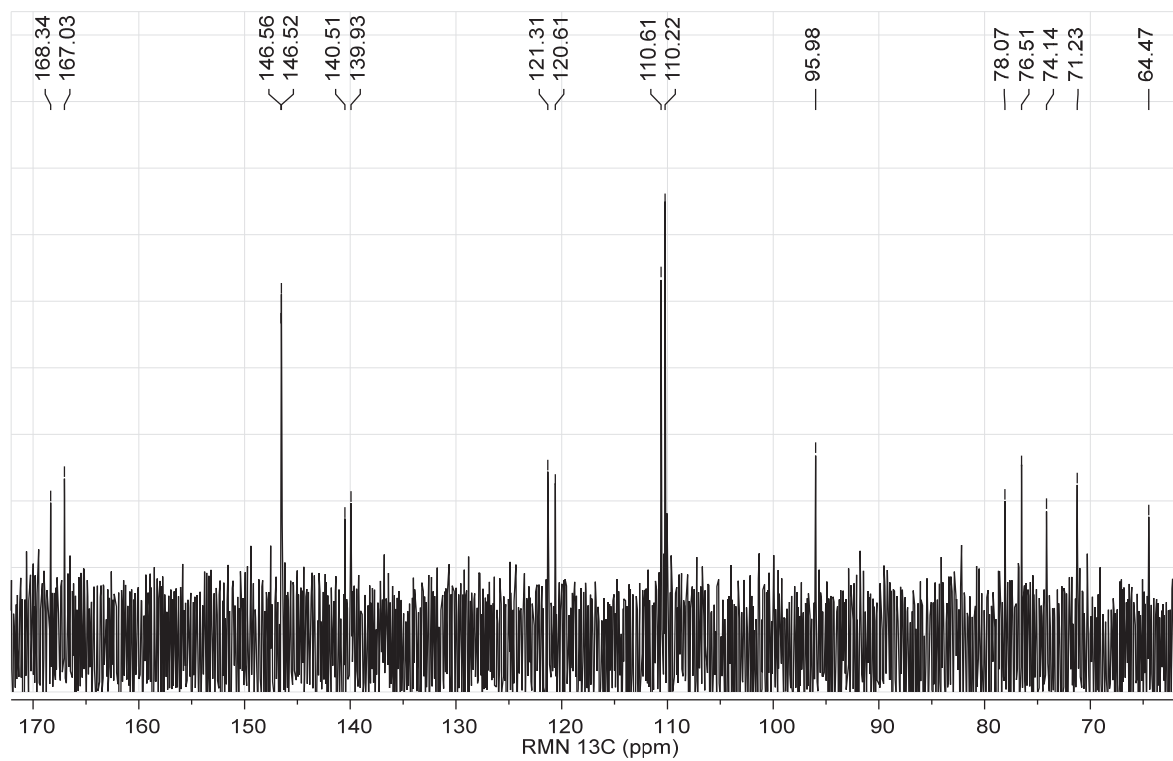
Données de la littérature

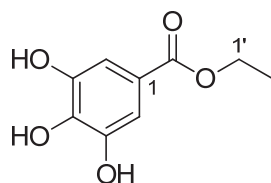
$[\alpha]_D^{21} = -21,9^\circ$ ($c = 1,0$, MeOH) [444].

RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) 7,13 (2H, s, H-2, 6^{I}), 7,08 (2H, s, H-2, 6^{VI}), 5,68 (1H, d, $J = 7,7$ Hz, H-1), 4,55 (1H, dd, $J = 12,1, 2,0$ Hz, H-6b), 4,40 (1H, dd, $J = 12,1, 5,1$ Hz, H-6a), 3,72 (1H, ddd, $J = 5,1, 2,0$ Hz, H-5), 3,52 (1H, m, H-3), 3,52 (1H, m, H-2), 3,51 (1H, m, H-4) [396].

RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) 168,38 (C-7 $^{\text{VI}}$), 167,06 (C-7 $^{\text{I}}$), 146,59 (C-3, 5^{VI}), 146,55 (C-3, 5^{I}), 140,47 (C-4 $^{\text{I}}$), 139,93 (C-4 $^{\text{VI}}$), 121,41 (C-1 $^{\text{VI}}$), 120,73 (C-1 $^{\text{I}}$), 110,68 (C-2, 6^{I}), 110,28 (C-2, 6^{VI}), 96,03 (C-1), 78,12 (C-3), 76,55 (C-5), 74,18 (C-2), 71,28 (C-4), 64,52 (C-6) [396].



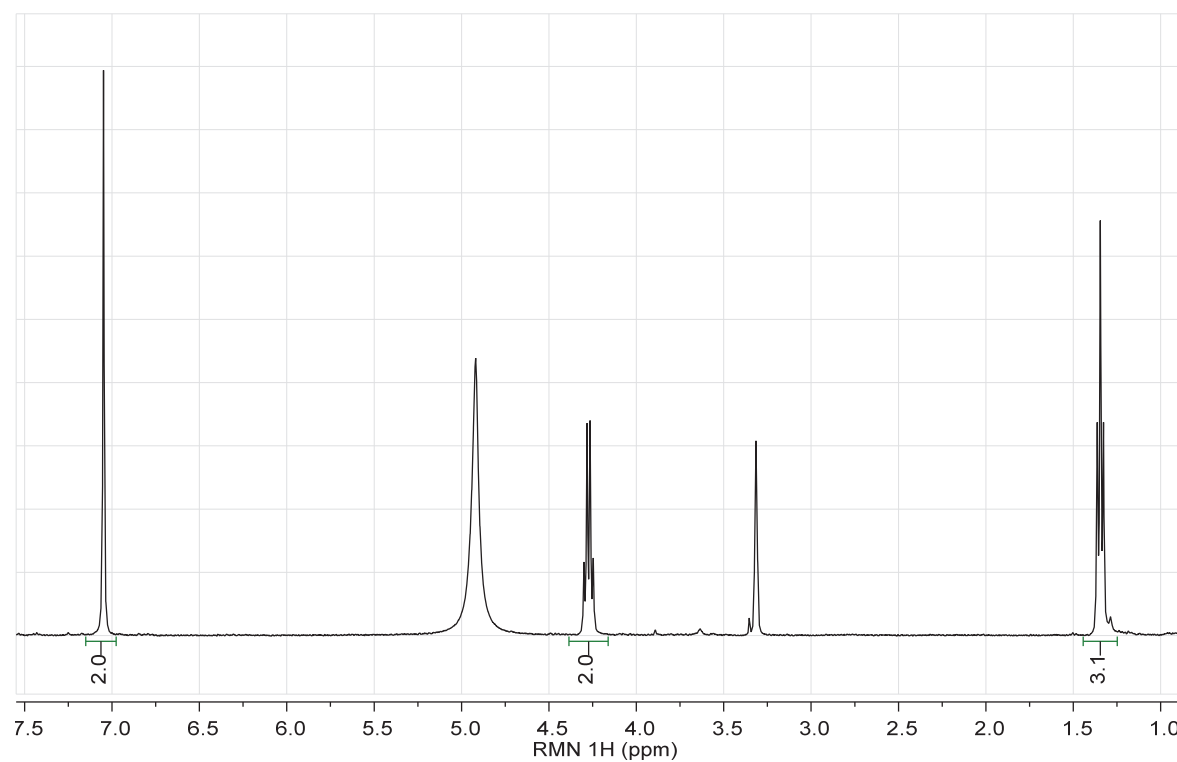


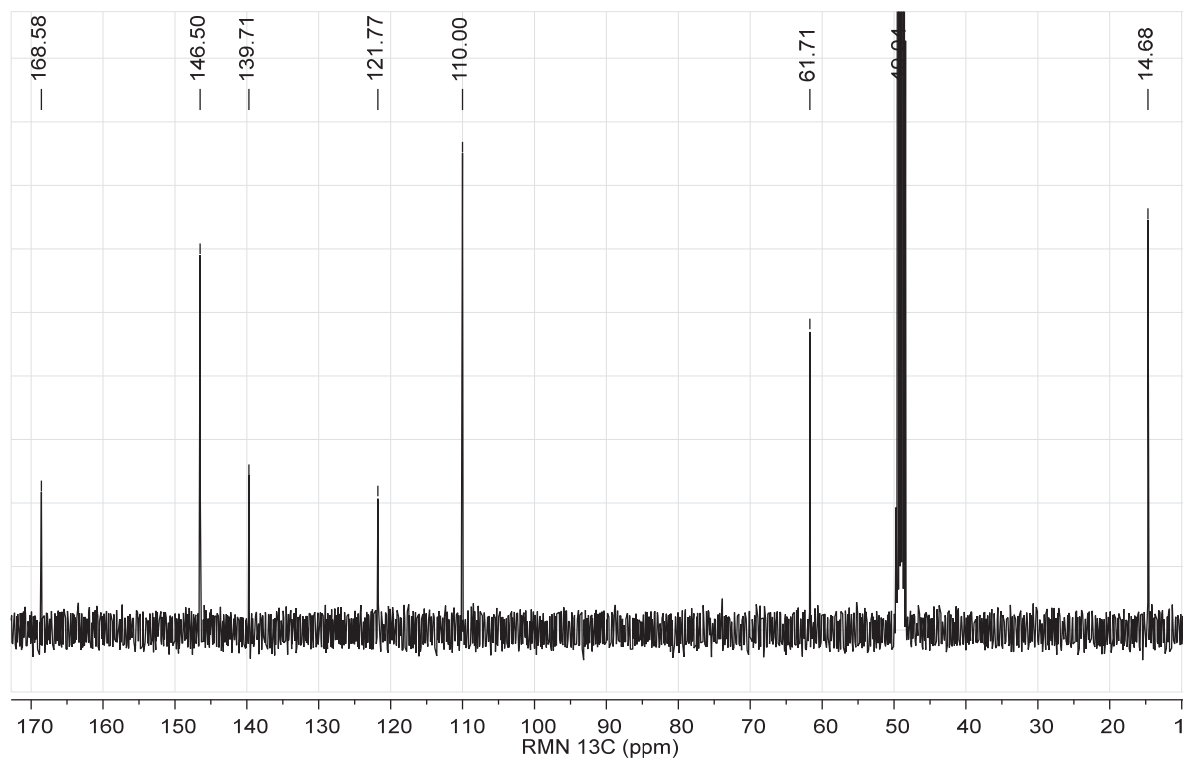
Spectres du composé **1079**Données de Takaoka *et al.* [393]

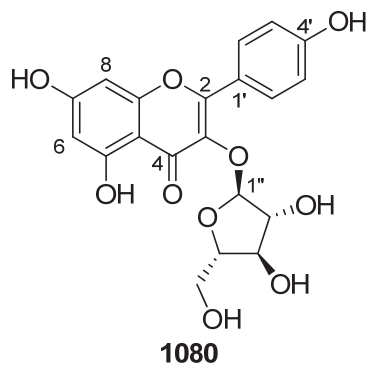
RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD) 7,04 (2H, s, H-2,6), 4,26 (2H, q, $J = 7,1$ Hz, H-1'), 1,33 (3H, t, $J = 7,1$ Hz, H-2').

1079

RMN ^{13}C (50 MHz, CD_3OD) 168,6 (C-7), 146,5 (C-3,5), 139,7 (C-4), 121,8 (C-1), 110,0 (C-2,6), 61,7 (C-1'), 14,6 (C-2').

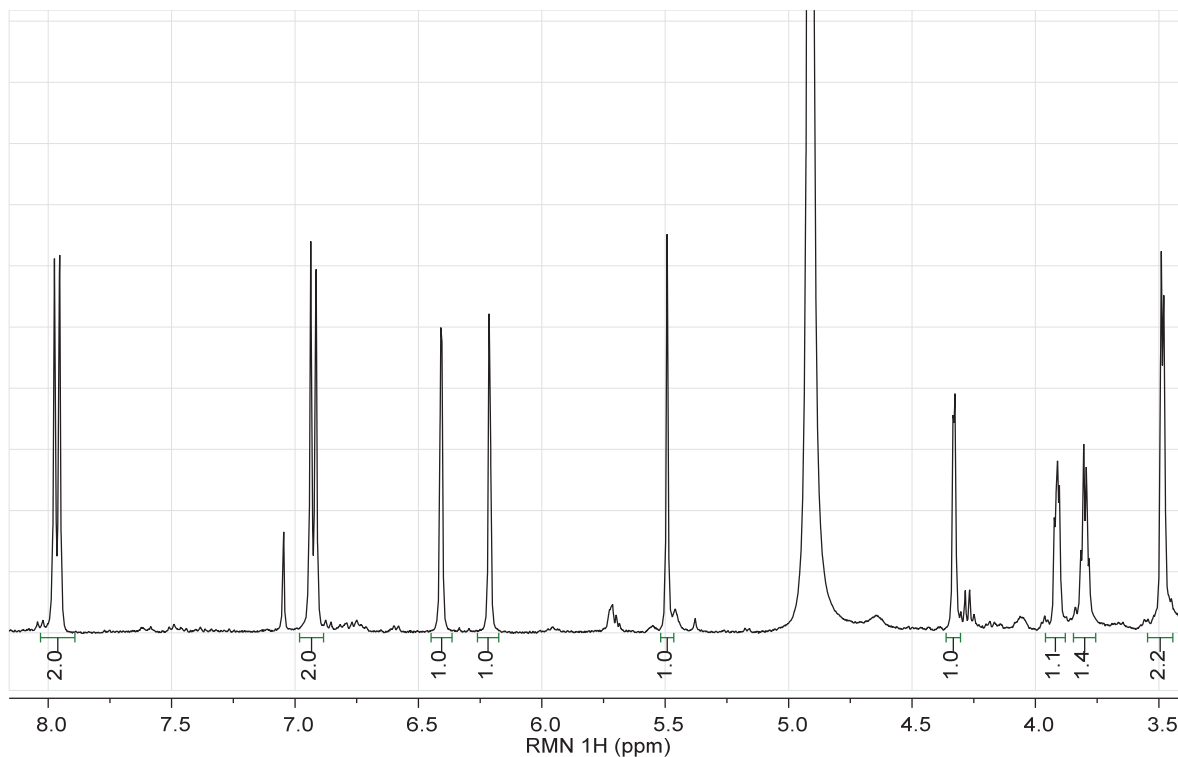


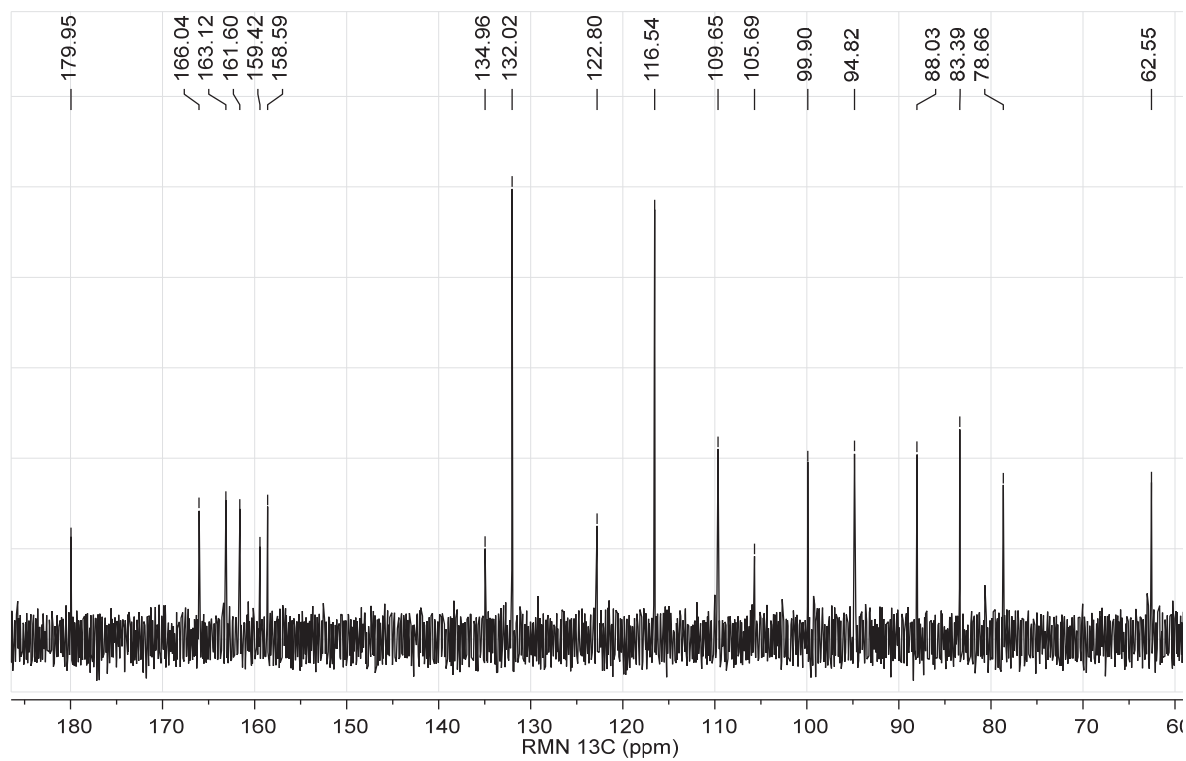


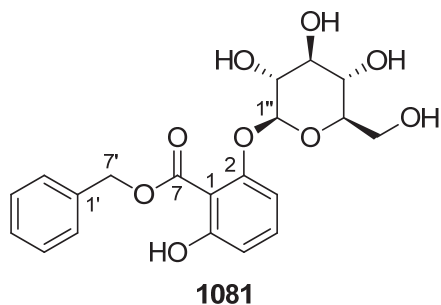
Spectres du composé **1080**Données de Kim *et al.* [387]
 $[\alpha]_D^{25} = -142^\circ$ ($c = 0,00047$, MeOH).

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) 7,92 (2H, d, $J = 8,7$ Hz, H-2',6'), 6,89 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3',5'), 6,36 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-8), 6,17 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-6), 5,46 (1H, s, H-1''), 4,30 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, H-2''), 3,89 (1H, dd, $J = 5,1, 3,0$ Hz, H-3''), 3,79 (1H, dd, $J = 8,9, 4,2$ Hz, H-4''), 3,47 (2H, d, $J = 4,0$ Hz, H-5').

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) 179,8 (C-4), 166,1 (C-7), 163,0 (C-5), 161,5 (C-4'), 159,3 (C-9), 158,5 (C-2), 134,9 (C-3), 131,9 (C-2'), 131,9 (C-6'), 122,8 (C-1'), 116,5 (C-3'), 116,5 (C-5'), 109,6 (C-1''), 105,6 (C-10), 99,9 (C-6), 94,8 (C-8), 87,9 (C-4''), 83,3 (C-2''), 78,6 (C-3''), 62,5 (C-5'').

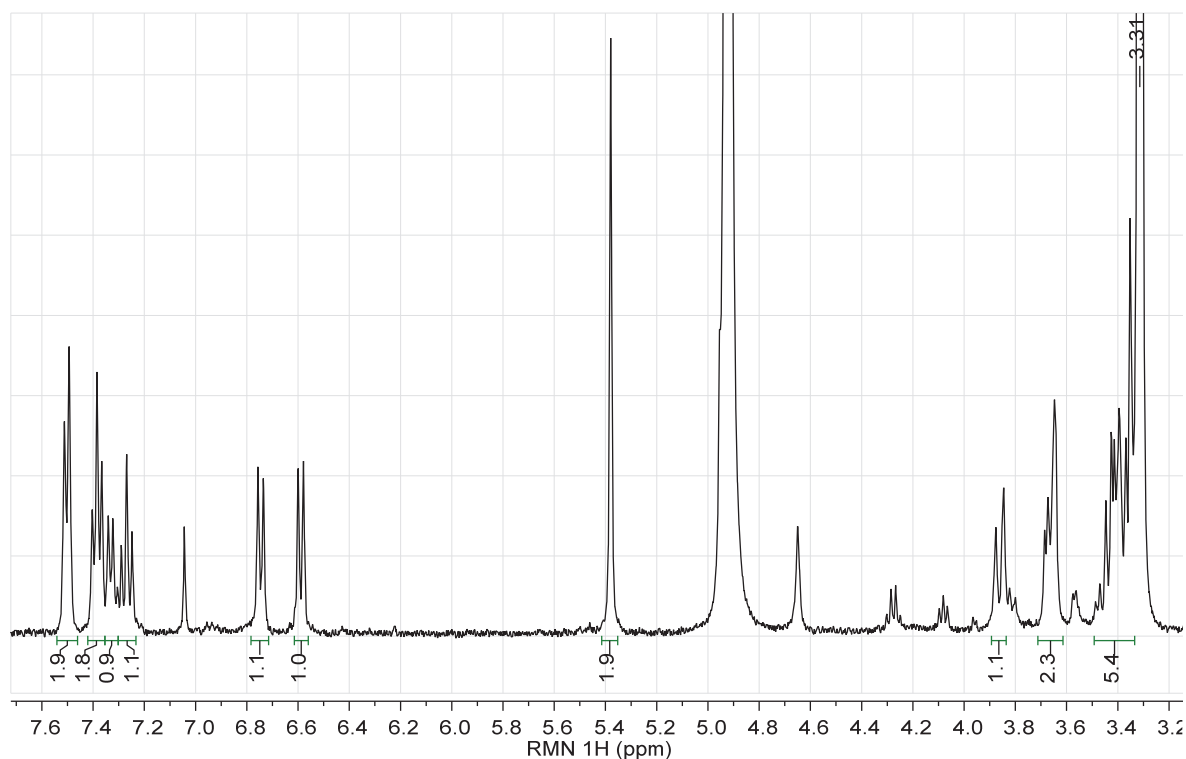


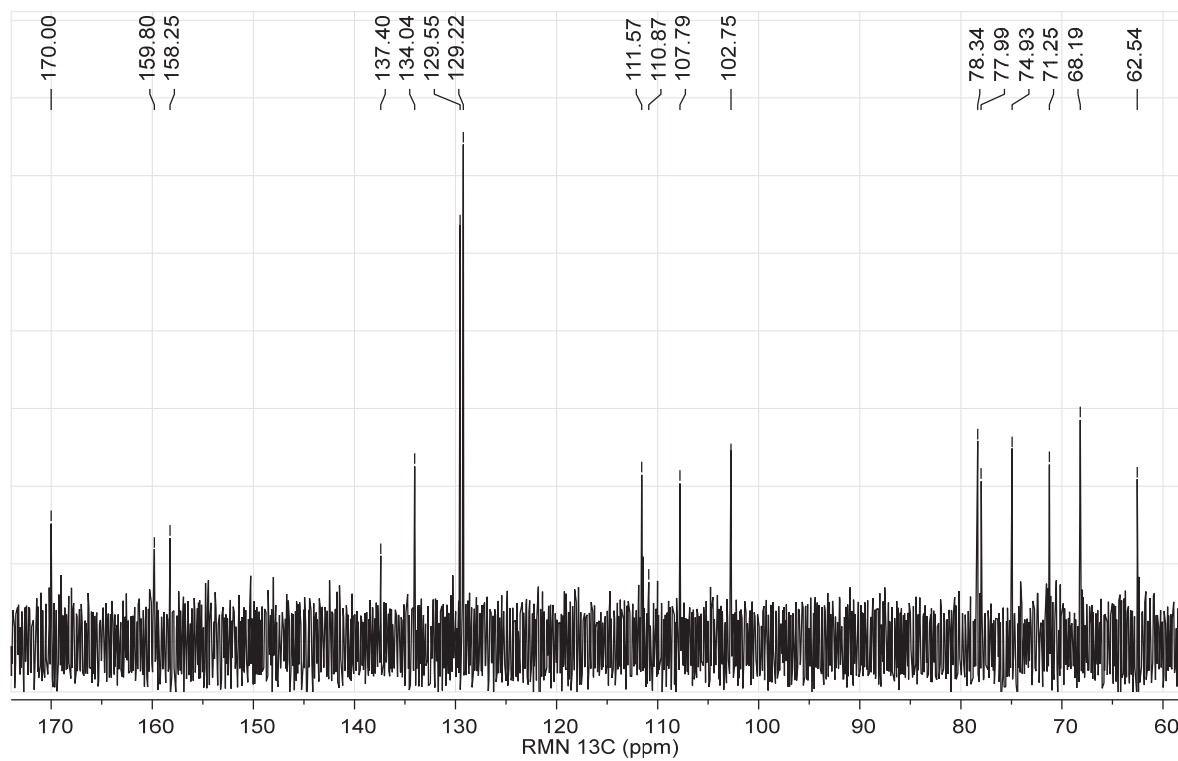


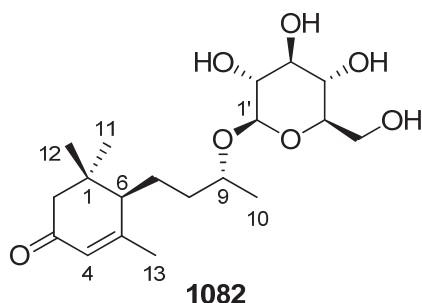
Spectres du composé **1081**Données de D'Abrosca *et al.* [402]

RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) 7,55–7,32 (5H, m, H-2'-H-6'), 7,26, (1H, t, $J = 8,4$ Hz, H-4), 6,73 (1H, dd, $J = 8,4, 1,0$ Hz, H-3), 6,59 (1H, dd, $J = 8,4, 1,0$ Hz, H-5), 5,37 (2H, s, H-7'), 4,93 (1H, d, $J = 7,2$ Hz, H-1''), 3,86 (1H, dd, $J = 12,0, 1,2$ Hz, H-6''a), 3,65 (1H, dd, $J = 12,0, 5,9$ Hz, H-6''a), 3,45–3,35 (4H, m, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'').

RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) 170,3 (C-7), 160,1 (C-2), 158,5 (C-6), 137,6 (C-1'), 134,3 (C-4), 129,8 (C-3',5'), 129,5 (C-2',6', C-4'), 111,9 (C-5), 108,1 (C-1), 108,0 (C-3), 103,0 (C-1''), 78,6 (C-5''), 78,2 (C-3''), 75,2 (C-2''), 71,5 (C-4''), 68,4 (C-7'), 62,8 (C-6'').

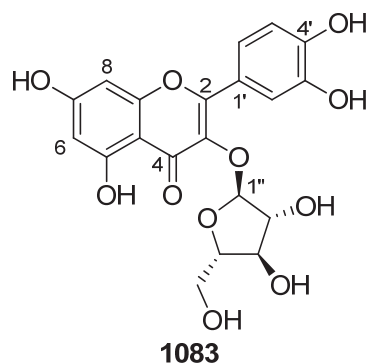




Spectres des composés **1082** et **1083**Données de la Matsunami *et al.* [392] $[\alpha]_D^{23} = +27,0^\circ$ ($c = 0,21$, MeOH).

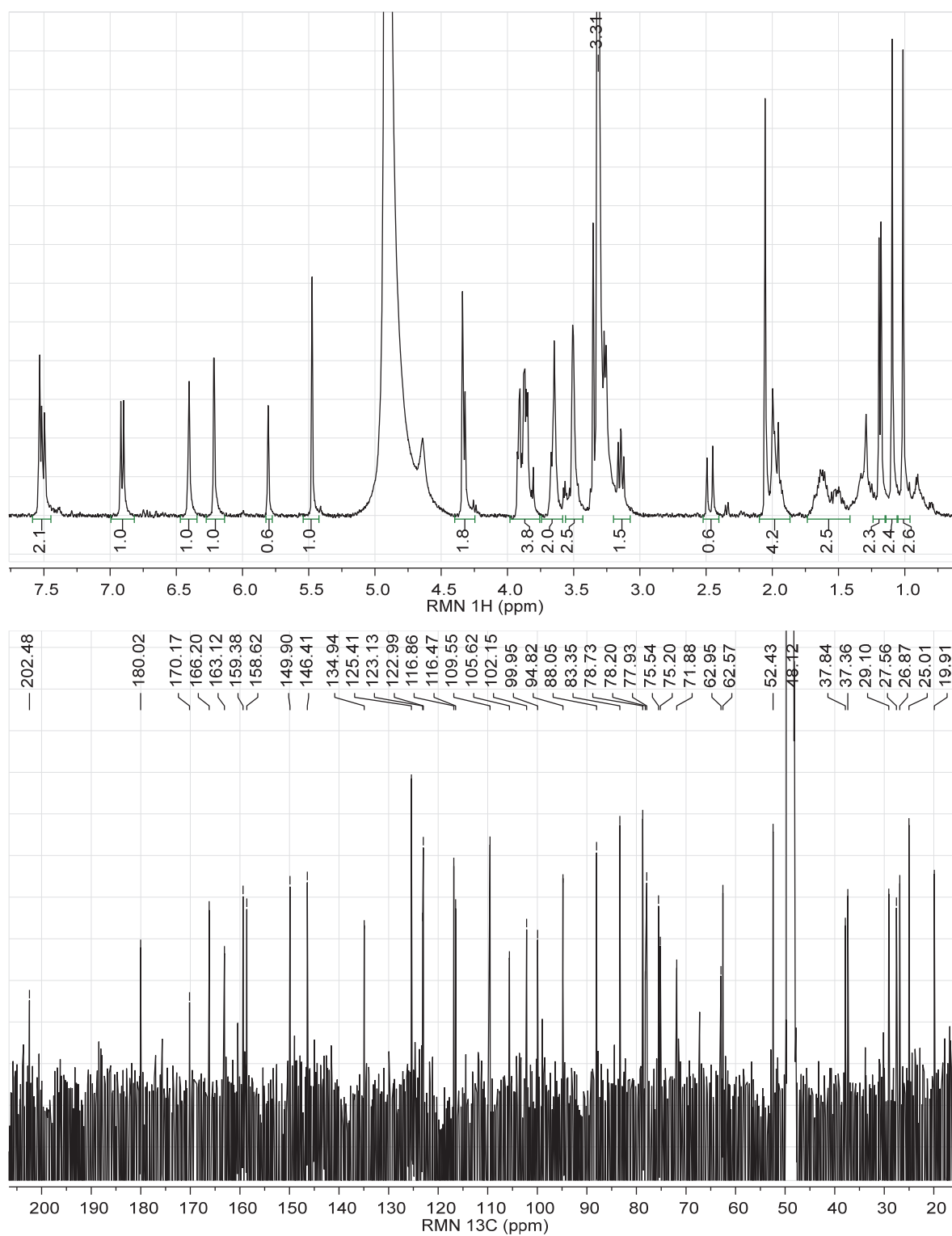
RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) 5,80 (1H, s, H-4), 4,33 (1H, d, $J = 8$ Hz, H-1'), 3,88 (1H, m, H-9), 3,85 (1H, dd, $J = 12, 5$ Hz, H-6'b), 3,65 (1H, dd, $J = 12, 2$ Hz, H-6'a), 3,35 (1H, dd, $J = 9, 9$ Hz, H-3'), 3,27 (1H, dd, $J = 9, 9$ Hz, H-4'), 3,26 (1H, m, H-5'), 3,14 (1H, dd, $J = 9, 8$ Hz, H-2'), 2,46 (1H, d, $J = 17$ Hz, H-2a), 2,04 (3H, d, $J = 1$ Hz, H-13), 1,99 (1H, m, H-6), 1,98 (1H, m, H-7a), 1,97 (1H, d, $J = 17$ Hz, H-2b), 1,68 (1H, m, H-8a), 1,61 (1H, m, H-8b), 1,50 (1H, m, H-7b), 1,18 (3H, d, $J = 6$ Hz, H-10), 1,09 (3H, s, H-12), 1,01 (3H, s, H-11).

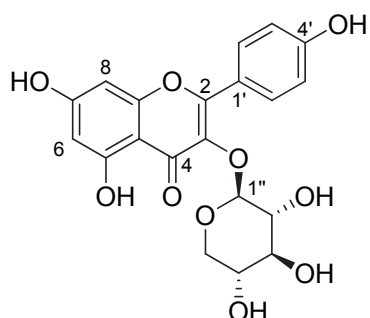
RMN ^1H (150 MHz, CD_3OD) 202,4 (C-3), 169,8 (C-5), 125,6 (C-4), 104,1 (C-1'), 78,3 (C-3'), 77,9 (C-5'), 77,7 (C-9), 75,4 (C-2'), 71,8 (C-4'), 62,9 (C-6'), 52,7 (C-6), 48,2 (C-2), 37,5 (C-8), 37,4 (C-1), 29,1 (C-11), 27,5 (C-12), 26,7 (C-7), 25,0 (C-13), 22,0 (C-10).

Données de Kim *et al.* [387] $[\alpha]_D^{25} = -152^\circ$ ($c = 0,00125$, MeOH).

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) 7,52 (1H, d, $J = 2,1$ Hz, H-2'), 7,48 (1H, dd, $J = 8,4, 1,6$ Hz, H-6'), 6,89 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-5'), 6,37 (1H, s, H-8), 6,19 (1H, d, $J = 1,8$ Hz, H-6), 5,46 (1H, s, H-1''), 4,33 (1H, d, $J = 2,7$ Hz, H-2''), 3,89 (1H, dd, $J = 4,8, 2,7$ Hz, H-3''), 3,80 (1H, dd, $J = 9,6, 4,8$ Hz, H-4''), 3,30 (2H, dd, $J = 3,3, 1,5$ Hz, H-5'').

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) 179,9 (C-4), 166,1 (C-7), 163,0 (C-5), 159,3 (C-2), 158,5 (C-9), 149,8 (C-4'), 146,3 (C-3'), 134,9 (C-3), 123,1 (C-6'), 122,9 (C-1'), 116,8 (C-2'), 116,4 (C-5'), 109,5 (C-1''), 105,6 (C-10), 99,9 (C-6), 94,8 (C-8), 87,9 (C-4''), 83,3 (C-2''), 78,7 (C-3''), 62,5 (C-5'').

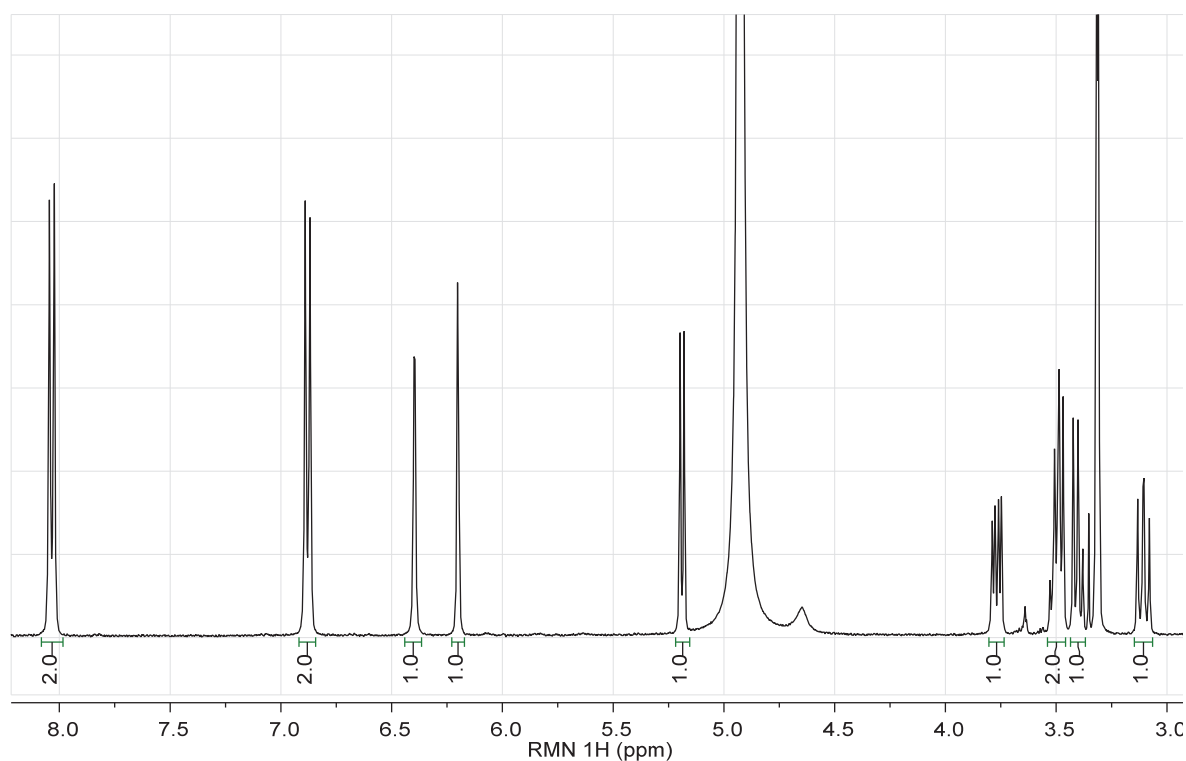


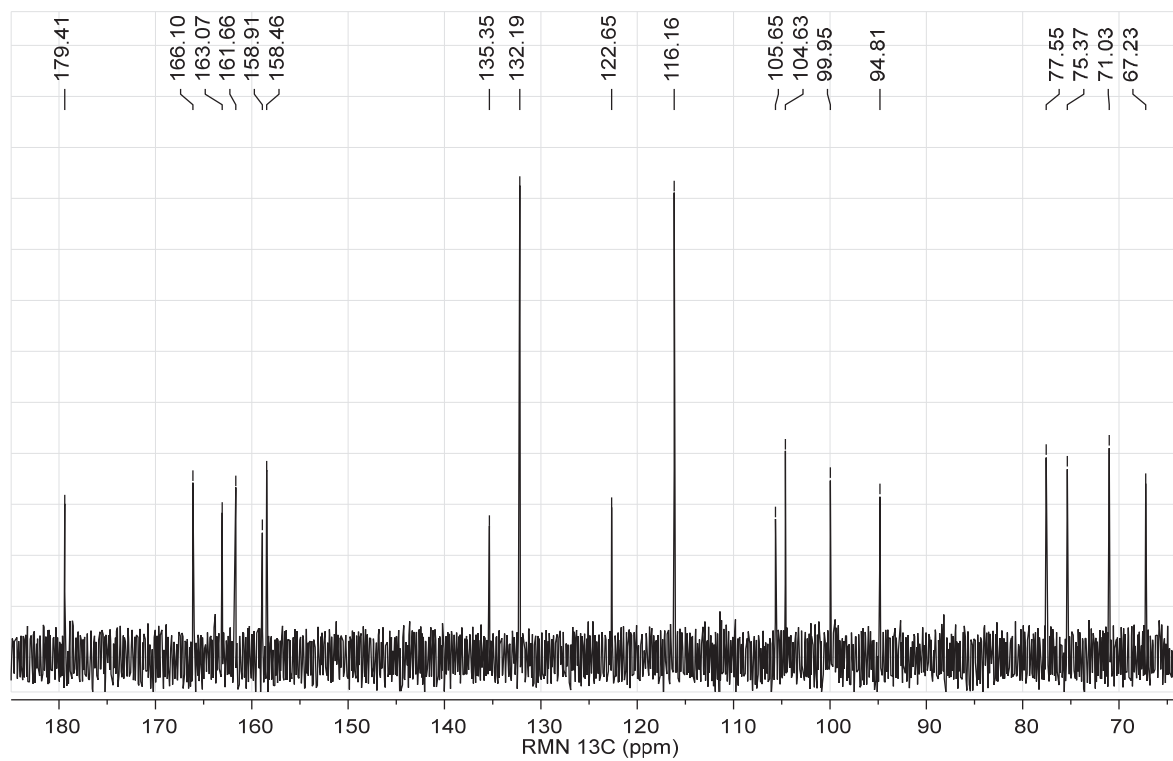
Spectres du composé **1084****1084**Données de la littérature

$[\alpha]_D^{20} = -44,1^\circ$ ($c = 0,1$, EtOH) [282].

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) 12,58 (1H, br s, 5-OH), 10,89 (1H, br s, OH), 10,24 (1H, br s, OH), 8,02 (2H, d, $J = 8,0$ Hz, H-2',6'), 6,89 (2H, d, $J = 8,0$ Hz, H-3',5'), 6,44 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), 6,21 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 5,33 (1H, d, $J = 6,8$ Hz, H-1'') [388].

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) 177,4 (C-4), 164,3 (C-7), 161,2 (C-5), 160,1 (C-4'), 156,3 (C-9), 156,2 (C-2), 133,1 (C-3), 130,8 (C-2',6'), 120,7 (C-1'), 115,3 (C-3', 5'), 103,9 (C-10), 101,7 (C-1''), 98,8 (C-6), 93,7 (C-8), 75,8 (C-4''), 73,7 (C-2''), 69,4 (C-3''), 65,9 (C-5'') [388].





CHAPITRE 7
SYNTHÈSE ET ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DE SUCRES
PERGALLOYLÉS

1. INTRODUCTION

Le 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (PGG, **970**) s'est avéré actif contre la prolifération du virus *Herpes simplex* 1 (HSV-1). Ce composé présente plusieurs autres propriétés biologiques qui ont été résumées par Zhang *et al.* [445]. Concernant l'activité antivirale, il a été démontré que la dose de gallotannins inhibant à 50 % la prolifération du virus (EC_{50}) était corrélée avec le nombre d'acide gallique [412]. Cependant, la cytotoxicité est aussi corrélée avec le nombre d'unité galloyle de sorte que le meilleur indice thérapeutique a été obtenu avec le PGG (**970**).

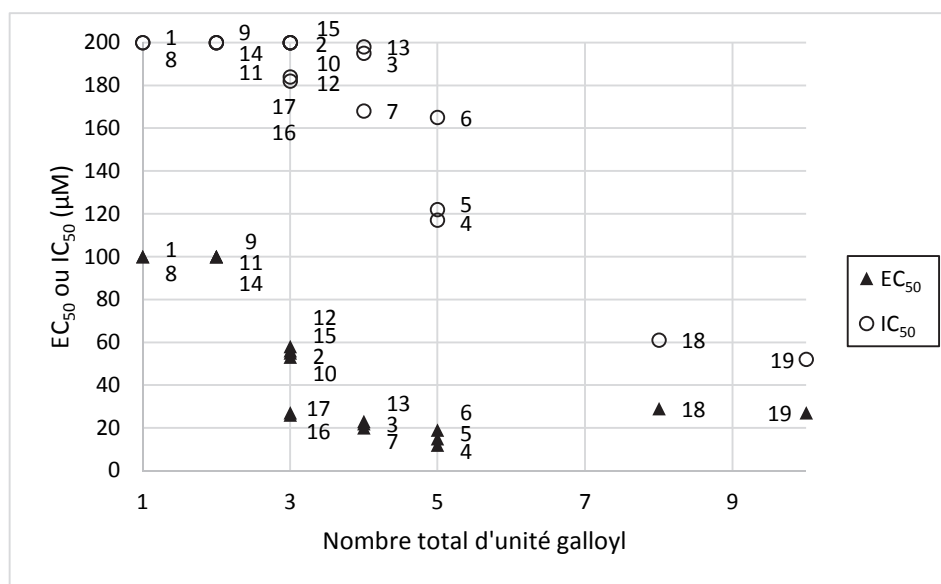


Figure 140 : Activité antivirale (HSV-1) et cytotoxique (FL) de gallotannins

1 = 6-*O*- β -D-glucose ; 2 = 1,2,6-tri-*O*- β -D-glucose ; 3 = 1,2,3,6-tétra-*O*- β -D-glucose ; 4 = 1,2,3,4,6-penta-*O*- β -D-glucose ; 5 = tellimagrandine I ; 6 = 1 α -*O*-galloylpedunculagine ; 7 = sanguine H-1 ; 8 = 5-*O*-galloyl-D-hamamelose ; 9 = 2',4'-di-*O*-galloyl-D-hamamelose ; 10 = 2',3,5-tri-*O*-galloyl-D-hamamelose ; 11 = 4,5-di-*O*-galloylprotoquercitol ; 12 = tri-*O*-galloylprotoquercitol ; 13 = 1,3,4,5-tétra-*O*-galloylprotoquercitol ; 14 = acide 3,4-di-*O*-galloylquinique ; 15 = acide 3,4,5-tri-*O*-galloylquinique ; 16 = acide chébulagique ; 17 = geraniine ; 18 = sanguine G-3 ; 19 = sanguine H-6 [412].

L'activité antidiabétique du PGG (**970**) a été le point de départ d'une étude de relation structure-activité [446]. Pour ce faire, une bibliothèque de molécule modifiée au niveau des unités galloyles et du sucre a été synthétisée. Les résultats ont montrés que les unités galloyles aux positions 1-4 sont essentielles. L'orientation équatoriale de ces mêmes unités sont également importantes puisque des analogues comme le 1,2,3,4,6-penta-*O*- β -D-galactopyranoside (**1115**) se sont montrés inactifs.

De la même manière, il a été entrepris d'étudier l'activité antiherpétique d'une série de sucres pergalloylés. Pour ce faire, la méthode de synthèse développée par Ren a été mise à profit avec quelques modifications (figure 141).

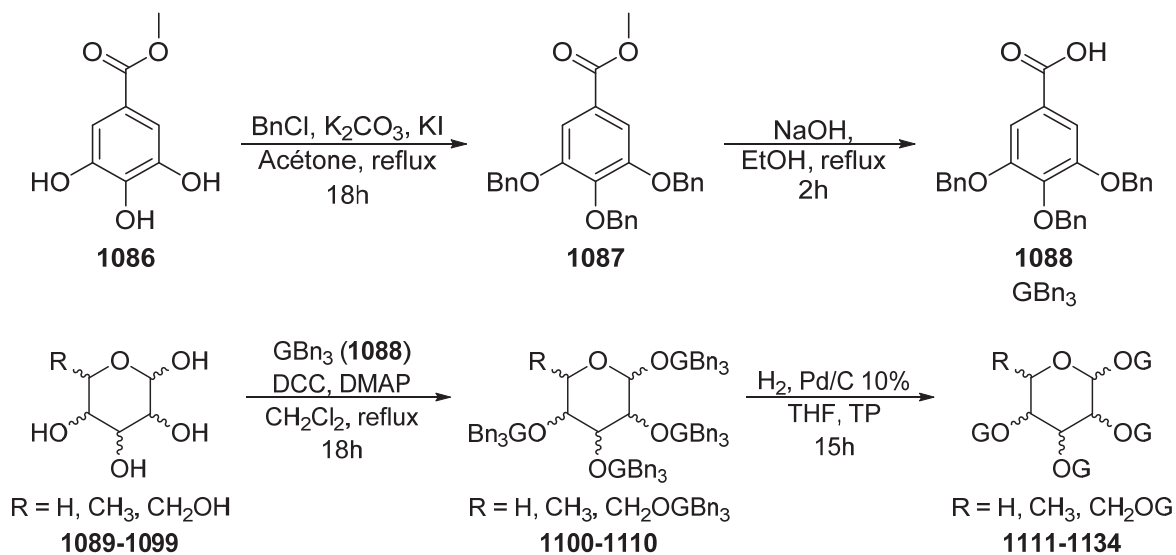


Figure 141 : Synthèse des sucres galloylés

D-glucose (**1089**), D-mannose (**1090**), D-galactose (**1091**), D-xylose (**1092**), L-ribose (**1093**), D-ribose (**1094**), L-arabinose (**1095**), D-arabinose (**1096**), L-rhamnose (**1097**), L-fucose (**1098**), D-fucose (**1099**).

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

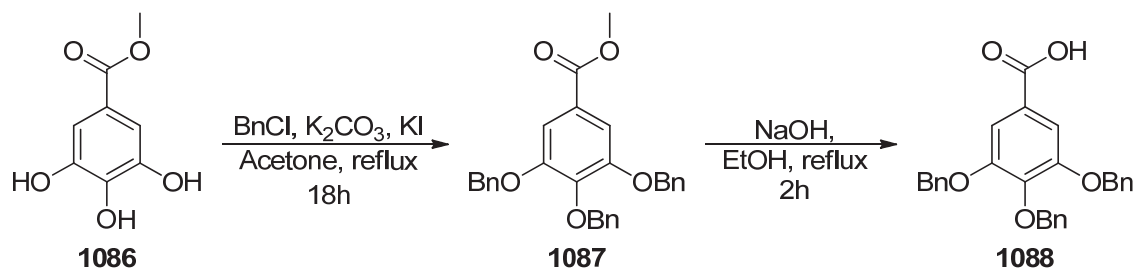
2.1. Considérations générales

Les mesures de rotations spécifiques ont été réalisées à la raie D du sodium (589 nm) avec un polarimètre digital Jasco DIP-360. Les spectres RMN ont été enregistrés à 292 K avec un appareil Bruker Avance 400, à une fréquence de 400,13 MHz pour le ^1H et 100,61 MHz pour le ^{13}C . Une sonde de 5 mm de type QNP, munie d'une bobine de gradient en Z a été utilisée. Tous les spectres ont été effectués dans le DMSO- d_6 , à moins d'indications contraires, et les déplacements chimiques sont indiqués en ppm, relativement aux pics résiduels du solvant (DMSO- d_6 ^1H = 2,50 ppm ; ^{13}C = 39,52 ppm). À moins d'indications contraires, les analyses HPLC ont été réalisées sur un appareil Agilent 1100 (dégazeur G1322A, pompe quaternaire G1311A, échantillonneur G1313A, four à colonne G1316A, détecteur UV-DAD G1315B) avec une colonne Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 × 250 mm, 5 μm). Les méthodes ont ensuite été utilisées pour le mode préparatif avec une colonne Zorbax PrepHT Eclipse XDB-C18 (21,2 × 250 mm, 7 μm) et un appareil Agilent 1100 (pompes préparatives G1361A, échantillonneur G2260A, détecteur à longueur d'onde variable G1314A, collecteur de fractions G1364B). Le dichlorométhane (CH_2Cl_2), l'hexanes (Hex) et l'acétate d'éthyle (EtOAc), l'acétone et le tétrahydrofurane (THF), tous de grade "réactif", ont été fabriqués par EMD et achetés chez VWR International (Ville Mont-Royal, QC, Canada). L'éthanol 95 % a été acheté chez Les Alcools de Commerce (Boucherville, QC, Canada). Lorsque nécessaire, les solvants ont été séchés selon des protocoles établis [447]. Le diméthylaminopyridine (DMAP), le N,N-dicyclohexylcarbodiimide (DCC), le chlorure de benzyle (BnCl), le D-mannose, le D-galactose, D-xylose, le D-ribose, le L- et le D-arabinose, le L-rhamnose, le L- et le D-fucose ont été achetés chez Sigma-Aldrich (Oakville, ON, Canada). Le L-ribose a été acheté chez Carbosynth (Compton, UK). Le D-glucose a été acheté chez Fisher Scientific (Ottawa, ON, Canada). L'acide chlorhydrique (HCl, EMD), l'hydroxyde de sodium (NaOH, EMD), le carbonate de sodium (K_2CO_3 , EMD), la célite (Alfa Aesar), l'iodure de potassium (KI, JT Baker) ont été achetés chez VWR International (Ville Mont-Royal, QC, Canada). Tous les réactifs ont été utilisés sans purification préalable. L'adsorbant utilisé pour la chromatographie sur colonne était le gel de silice Ultra Pure (40-63 μm , Silicycle, QC, Canada). Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées avec des plaques de verre recouvertes de gel de silice 60 F₂₅₄ (250 μm d'épaisseur, Silicycle, QC, Canada). Les taches ont été révélées en immergeant les plaques dans une solution contenant 0,5 g de nitrate de cérium et

d'ammonium $(\text{Ce}(\text{NH}_4)_2(\text{NO}_3)_6)$, 24 g de molybdate d'ammonium tétrahydrate $((\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O})$, 28 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) et de l'eau (q.s.p 1 l). Les CCM ont ensuite été chauffées sur une plaque chauffante jusqu'à l'apparition de taches bleutées.

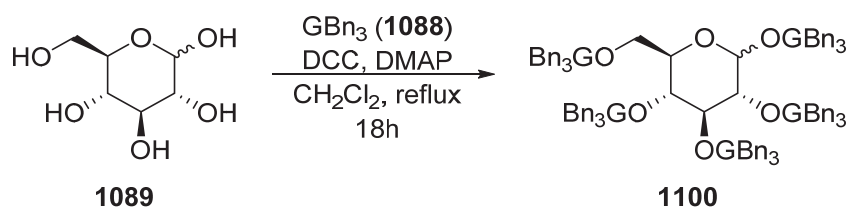
2.2. Synthèses

2.2.1 Synthèse de l'acide tribenzylgallique (**1088**)



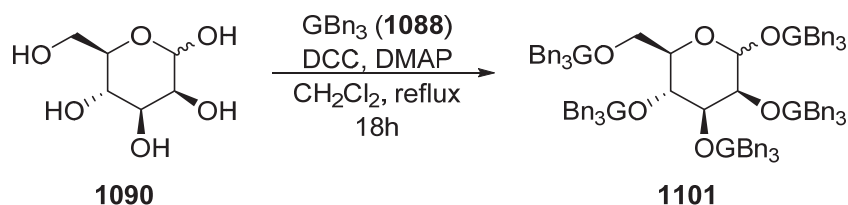
Du gallate de méthyle (**1086**, 20,0 g) a été dissout dans 1 l d'acétone ($9,2 \text{ ml mmol}^{-1}$). Du carbonate de potassium (K_2CO_3 , 60,0 g, 4 eq) et de l'iodure de potassium (KI , 7,2 g, 0,4 eq) ont été ajoutés sous forte agitation. Du chlorure de benzyle (BnCl , 41,3 ml, 3,3 eq) a été ajouté goutte à goutte avant de porter le milieu réactionnel à reflux pendant 21 h. Par la suite, le milieu réactionnel a été filtré par gravité puis rincé abondamment avec de l'acétone (500 ml). Le résidu solide, récupéré par dissolution avec de l'eau, a été extrait avec du dichlorométhane. Les phases organiques ont été combinées puis évaporées. Le résidu a été dissout dans du dichlorométhane puis filtré sur célite 421. Le produit a été récupéré sous forme de solide jaune [446]. Ce dernier a été solubilisé dans de l'éthanol 95 % (500 ml, $4,6 \text{ ml mmol}^{-1}$), puis de l'hydroxyde de sodium (8,69 g, 2 eq) a été ajouté avant de porter le tout à reflux durant 3 h. Le produit a été récupéré par précipitation avec HCl 0,6 N puis purifié par recristallisation dans l'éthanol 95 % (3 l). 44,02 g de cristaux blancs ont été obtenus pour un rendement sur deux étapes de 92 %.

2.2.2 Synthèse des 1,2,3,4,6-penta-*O*-tribenzylgalloyl-D-glucopyranosides (**1100**)



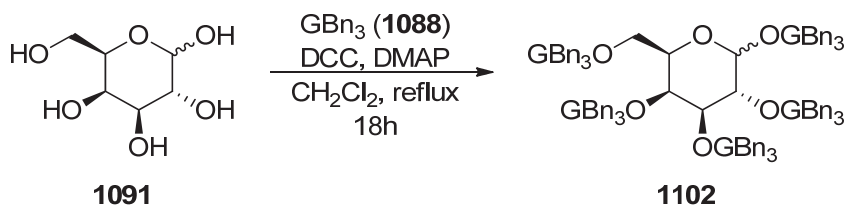
Du D-glucose (**1089**, 75,3 mg) a été mis en suspension dans du dichlorométhane anhydre (50 ml, 120 ml mmol^{-1}) sous agitation. Du 4-diméthylaminopyridine (DMAP, 438,8 mg, 8,6 eq), du *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC, 789,3 mg, 9,2 eq) et du GBn_3 (**1088**, 1349,7 mg, 7,3 eq) ont été ajoutés. Le milieu réactionnel a été porté à reflux sous forte agitation pendant 18 h. Ensuite, la température a été abaissée à 0 °C et le milieu réactionnel a été filtré par gravité pour enlever le *N,N'*-dicyclohexylurée (DCU). Le filtrat a été évaporé avec du gel de silice, puis purifié par chromatographie éclair sur gel de silice avec hexane/EtOAc 70:30 \rightarrow 60:40. Les produits (**1100**, 970,3 mg) ont été obtenus avec un rendement de 101 %.

2.2.3 Synthèse des 1,2,3,4,6-penta-*O*-tribenzylgalloyl-D-mannopyranosides (**1101**)



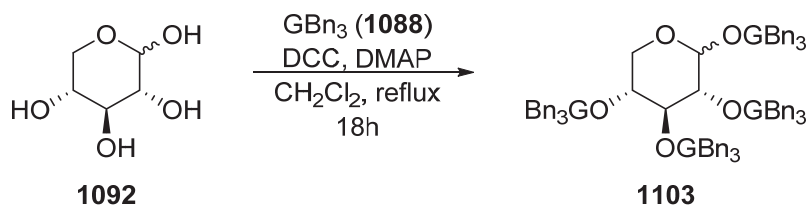
Du D-mannose (**1090**, 100,7 mg) a été mis en suspension dans du dichlorométhane anhydre (67 ml, 120 ml mmol^{-1}) sous agitation. Du DMAP (565,0 mg, 8,3 eq), du DCC (1045,7 mg, 9,1 eq) et du GBn_3 (**1088**, 1744,4 mg, 7,1 eq) ont été ajoutés. Le milieu réactionnel a été porté à reflux sous forte agitation pendant 18 h. Ensuite, la température a été abaissée à 0 °C et le milieu réactionnel a été filtré par gravité pour enlever le DCU. Le filtrat a été évaporé et utilisé dans l'étape suivante sans purification. Les produits (**1101**, 2319,9 mg) ont été obtenus avec un rendement de 181 %.

2.2.4 Synthèse des 1,2,3,4,6-penta-*O*-tribenzylgalloyl-D-galactopyranosides (**1102**)



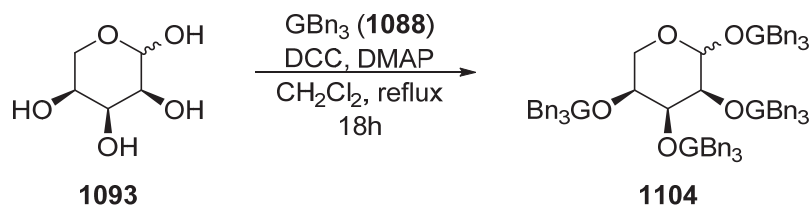
Du D-galactose (**1091**, 100,0 mg) a été mis en suspension dans du dichlorométhane anhydre (65 ml, 117 ml mmol^{-1}) sous agitation. Du DMAP (542,6 mg, 8,0 eq), du DCC (1031,0 mg, 9,0 eq) et du GBn_3 (**1088**, 1711,0 mg, 7,0 eq) ont été ajoutés. Le milieu réactionnel a été porté à reflux sous forte agitation pendant 18 h. Ensuite, la température a été abaissée à 0 °C et le milieu réactionnel a été filtré par gravité pour enlever le DCU. Le filtrat a été évaporé avec du gel de silice, puis purifié par chromatographie éclair sur gel de silice avec hexane/EtOAc 70:30 → 50:50. Les produits (**1102**, 1499,5 mg) ont été obtenus avec un rendement de 118 %.

2.2.5 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-tribenzylgalloyl-D-xylopyranosides (**1103**)



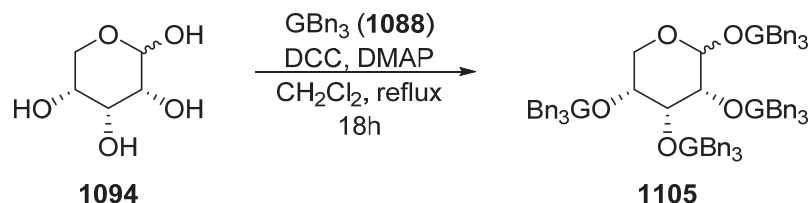
Du D-xylose (**1092**, 99,6 mg) a été mis en suspension dans du dichlorométhane anhydre (100 ml, 151 ml mmol^{-1}) sous agitation. Du DMAP (649,3 mg, 8,0 eq), du DCC (1270,5 mg, 9,3 eq) et du GBn_3 (**1088**, 1547,3 mg, 5,3 eq) ont été ajoutés. Le milieu réactionnel a été porté à reflux sous forte agitation pendant 18 h. Ensuite, la température a été abaissée à 0 °C et le milieu réactionnel a été filtré par gravité pour enlever le DCU. Le filtrat a été évaporé et utilisé dans l'étape suivante sans purification. Les produits (**1103**, 2776,7 mg) ont été obtenus avec un rendement de 227 %.

2.2.6 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-tribenzylgalloyl-L-ribopyranosides (**1104**)

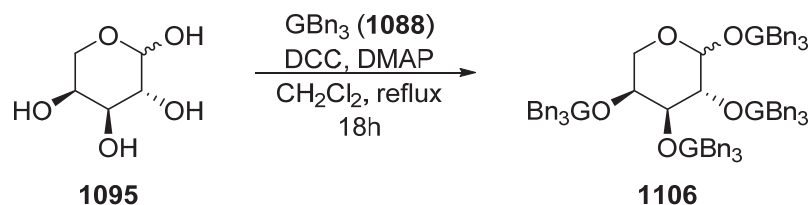


Du L-ribose (**1093**, 106,8 mg) a été mis en suspension dans du dichlorométhane anhydre (90 ml, 127 ml mmol^{-1}) sous agitation. Du DMAP (611,7 mg, 7,0 eq), du DCC (874,5 mg, 6,0 eq) et du GBn_3 (**1088**, 1614,4 mg, 5,2 eq) ont été ajoutés. Le milieu réactionnel a été porté à reflux sous forte agitation pendant 18 h. Ensuite, la température a été abaissée à 0 °C et le milieu réactionnel a été filtré par gravité pour enlever le DCU. Le filtrat a été évaporé et utilisé dans l'étape suivante sans purification. Les produits (**1104**, 1346,0 mg) ont été obtenus avec un rendement de 103 %.

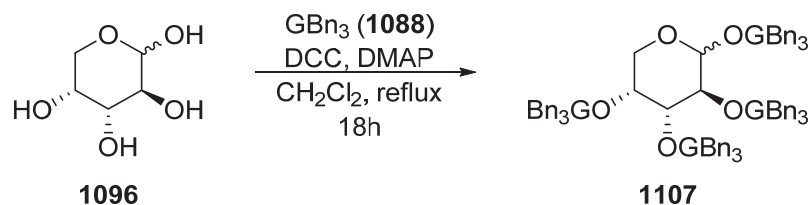
2.2.7 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-tribenzylgalloyl-D-ribopyranosides (**1105**)



Du D-ribose (**1094**, 400,0 mg) a été mis en suspension dans du dichlorométhane anhydre (320 ml, 120 ml mmol^{-1}) sous agitation. Du DMAP (2736,0 mg, 8,4 eq), du DCC (5010,0 mg, 9,1 eq) et du GBn_3 (**1088**, 8556,0 mg, 7,3 eq) ont été ajoutés. Le milieu réactionnel a été porté à reflux sous forte agitation pendant 18 h. Ensuite, la température a été abaissée à 0 °C et le milieu réactionnel a été filtré par gravité pour enlever le DCU. Le filtrat a été évaporé avec du gel de silice, puis purifié par chromatographie éclair sur gel de silice avec hexane/EtOAc 85:15 \rightarrow 60:40. Les produits (**1105**, 1960,0 mg) ont été obtenus avec un rendement de 40 %.

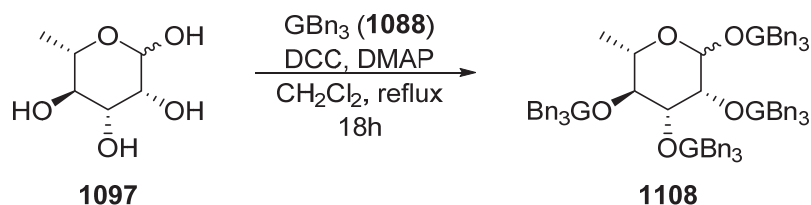
2.2.8 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-tribenzylgalloyl-L-arabinopyranosides (**1106**)

Du L-arabinose (**1095**, 101,2 mg) a été mis en suspension dans du dichlorométhane anhydre (100 ml, 148 ml mmol⁻¹) sous agitation. Du DMAP (654,0 mg, 7,9 eq), du DCC (969,4 mg, 7,0 eq) et du GBN₃ (**1088**, 1768,6 mg, 6,0 eq) ont été ajoutés. Le milieu réactionnel a été porté à reflux sous forte agitation pendant 18 h. Ensuite, la température a été abaissée à 0 °C et le milieu réactionnel a été filtré par gravité pour enlever le DCU. Le filtrat a été évaporé avec du gel de silice, puis purifié par chromatographie éclair sur gel de silice avec hexane/EtOAc 80:20 → 75:25. Les produits (**1106**, 1633,6 mg) ont été obtenus avec un rendement de 132 %.

2.2.9 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-tribenzylgalloyl-D-arabinopyranosides (**1107**)

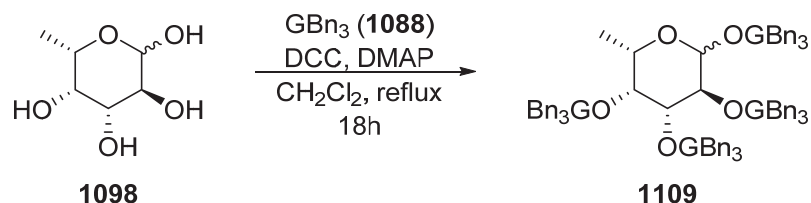
Du D-arabinose (**1096**, 100,7 mg) a été mis en suspension dans du dichlorométhane anhydre (100 ml, 149 ml mmol⁻¹) sous agitation. Du DMAP (676,4 mg, 8,3 eq), du DCC (971,0 mg, 7,0 eq) et du GBN₃ (**1088**, 1762,3 mg, 6,0 eq) ont été ajoutés. Le milieu réactionnel a été porté à reflux sous forte agitation pendant 18 h. Ensuite, la température a été abaissée à 0 °C et le milieu réactionnel a été filtré par gravité pour enlever le DCU. Le filtrat a été évaporé avec du gel de silice, puis purifié par chromatographie éclair sur gel de silice avec hexane/EtOAc 80:20 → 75:25. Les produits (**1106**, 1314,0 mg) ont été obtenus avec un rendement de 106 %.

2.2.10 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-tribenzylgalloyl-L-rhamnopyranosides (**1108**)



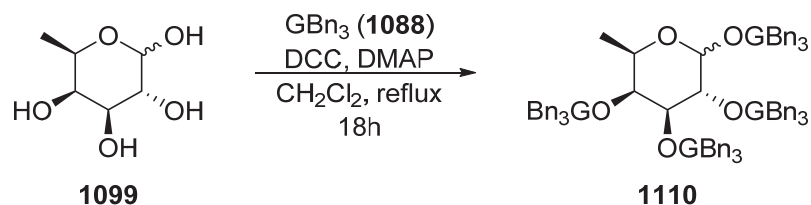
Du L-rhamnose (**1097**, 101,2 mg) a été mis en suspension dans du dichlorométhane anhydre (90 ml, 146 ml mmol^{-1}) sous agitation. Du DMAP (667,7 mg, 8,9 eq), du DCC (1007,4 mg, 7,9 eq) et du GBn_3 (**1088**, 1909,0 mg, 7,0 eq) ont été ajoutés. Le milieu réactionnel a été porté à reflux sous forte agitation pendant 18 h. Ensuite, la température a été abaissée à 0 °C et le milieu réactionnel a été filtré par gravité pour enlever le DCU. Le filtrat a été évaporé et utilisé dans l'étape suivante sans purification. Les produits (**1108**, 1129,4 mg) ont été obtenus avec un rendement de 99 %.

2.2.11 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-tribenzylgalloyl-L-fucopyranosides (**1109**)



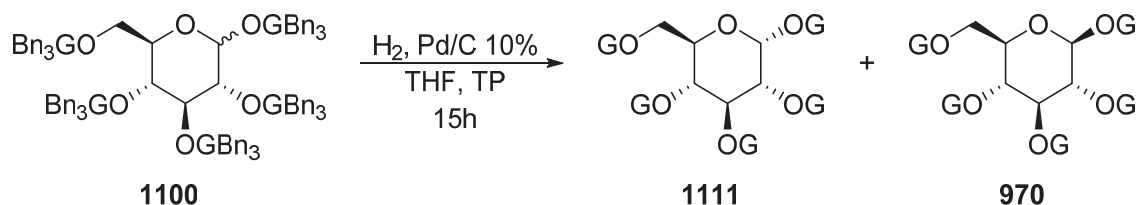
Du L-fucose (**1098**, 101,4 mg) a été mis en suspension dans du dichlorométhane anhydre (75 ml, 121 ml mmol^{-1}) sous agitation. Du DMAP (48,4 mg, 0,6 eq), du DCC (646,3 mg, 5,1 eq) et du GBn_3 (**1088**, 1360,8 mg, 5,0 eq) ont été ajoutés. Le milieu réactionnel a été porté à reflux sous forte agitation pendant 18 h. Ensuite, la température a été abaissée à 0 °C et le milieu réactionnel a été filtré par gravité pour enlever le DCU. Le filtrat a été évaporé et utilisé dans l'étape suivante sans purification. Les produits (**1109**, 1355,6 mg) ont été obtenus avec un rendement de 118 %.

2.2.12 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-tribenzylgalloyl-D-fucopyranosides (**1110**)



Du D-fucose (**1099**, 100,0 mg) a été mis en suspension dans du dichlorométhane anhydre (75 ml, 123 ml mmol⁻¹) sous agitation. Du DMAP (41,1 mg, 0,6 eq), du DCC (680,1 mg, 5,4 eq) et du GBN₃ (**1088**, 1346,9 mg, 5,0 eq) ont été ajoutés. Le milieu réactionnel a été porté à reflux sous forte agitation pendant 18 h. Ensuite, la température a été abaissée à 0 °C et le milieu réactionnel a été filtré par gravité pour enlever le DCU. Le filtrat a été évaporé et utilisé dans l'étape suivante sans purification. Les produits (**1110**, 1129,4 mg) ont été obtenus avec un rendement de 100 %.

2.2.13 Synthèse des 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl-D-glucopyranosides (**1111-970**)



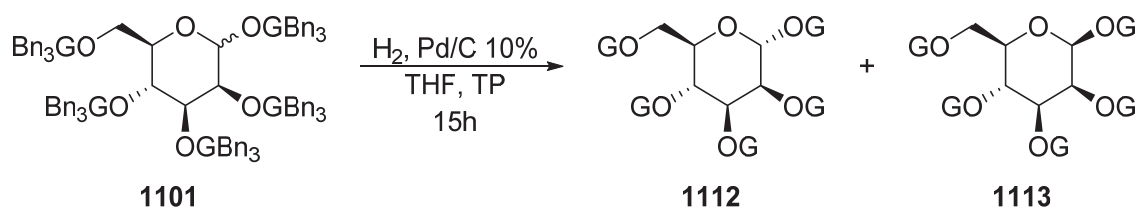
Les composés **1100** (970,3 mg) ont été dissout dans du THF anhydre (97 ml, 229 ml mmol⁻¹) puis mis sous agitation. Du palladium adsorbé sur carbone à 10 % (450,6 mg, 0,1 eq) a été ajouté. Le milieu réactionnel a été purgé avec H₂ pendant près de 1 h. La réaction a été agitée pendant 15 h sous une atmosphère d'hydrogène avec une pression d'environ 15 psi. Le milieu réactionnel a été filtré sur célite 421 puis évaporé. Les produits ont été purifiés par HPLC préparatif [30 % MeOH $\xrightarrow{15 \text{ min}}$ 50 % MeOH $\xrightarrow{3 \text{ min}}$ 90 % MeOH (5 min)]. Les produits obtenus sont **970** (T_R = 7,9 min, 99,9 mg, 25 %) et **1111** (T_R = 10,6 min, 94,4 mg, 24 %). Rendement sur deux étapes : α = 24 % ; β = 25 %.

1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl-α-D-glucopyranoside (1111**)** : [α]_D²⁰ +116,1° (c = 1,3, MeOH) ; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ_H 7,11, 7,01, 6,90, 6,84, 6,80 (chacun 2H, s, H-2,6^{I-VI}), 6,63 (1H, d, *J* = 3,8 Hz, H-1), 5,99 (1H, t, *J* = 10,0 Hz, H-3), 5,60 (1H, t, *J* = 9,9 Hz, H-4), 5,42 (1H, dd, *J* = 10,3, 3,7 Hz, H-

2), 4,51 (1H, d, $J = 10,4$ Hz, H-5), 4,33 (2H, br s, H-6) ; RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ_{C} 165,71, 165,26, 165,23, 164,68, 164,29 (5 \times , C-7 $^{1-\text{VI}}$), 146,07, 145,82, 145,79, 145,74, 145,67 (5 \times , C-3,5 $^{1-\text{VI}}$), 139,97, 139,57, 139,43, 139,28, 139,02 (5 \times , C-4 $^{1-\text{VI}}$), 119,22, 118,36, 118,22, 118,12, 117,97 (5 \times , C-1 $^{1-\text{VI}}$), 109,35, 109,19, 109,07, 109,07, 109,01 (5 \times , C-2,6 $^{1-\text{VI}}$), 89,23 (C-1), 70,52 (C-5), 70,09 (C-2), 69,71 (C-3), 67,62 (C-4), 61,50 (C-6).

1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (970) : $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +13,9^\circ$ ($c = 1,4$, MeOH) ; RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ_{H} 6,99, 6,93, 6,86, 6,83, 6,78 (chacun 2H, s, H-2,6 $^{1-\text{VI}}$), 6,39 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-1), 5,97 (1H, t, $J = 9,6$ Hz, H-3), 5,50-5,40 (2H, m, H-2, H-4), 4,60 (1H, d, $J = 9,7$ Hz, H-5), 4,32 (2H, br s, H-6) ; RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ_{C} 165.69, 165.08, 164.86, 164.72, 164.21 (5 \times , C-7 $^{1-\text{VI}}$), 145.92, 145.80, 145.74, 145.71, 145.63 (5 \times , C-3,5 $^{1-\text{VI}}$), 139.92, 139.41, 139.37, 139.18, 139.03 (5 \times , C-4 $^{1-\text{VI}}$), 119.15, 118.35, 118.32, 118.18, 117.60 (5 \times , C-1 $^{1-\text{VI}}$), 109.28, 109.14, 109.05, 109.01, 108.97 (5 \times , C-2,6 $^{1-\text{VI}}$), 91,96 (C-1), 72,40 (C-5), 72,19 (C-3), 70,82 (C-2), 67,98 (C-4), 61,68 (C-6).

2.2.14 Synthèse des 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl-D-mannopyranosides (**1112-1113**)



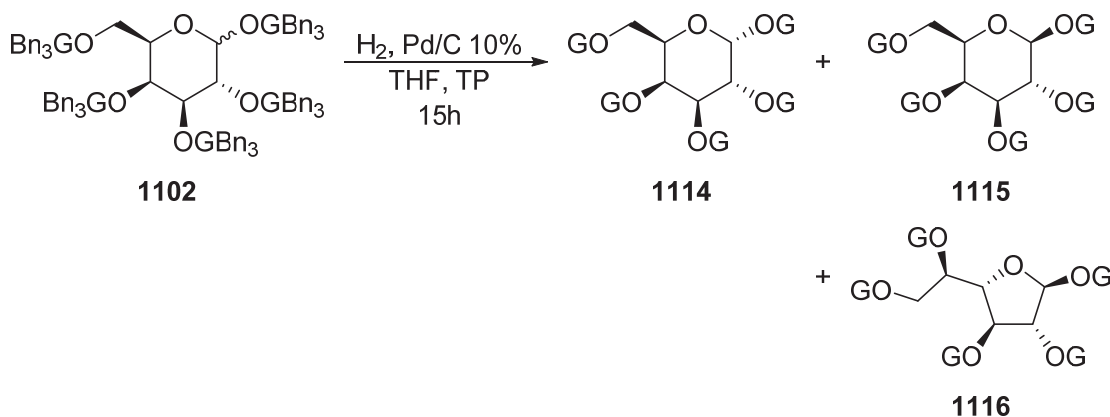
Les composés **1101** (2319,9 mg) ont été dissout dans du THF anhydre (232 ml, 229 mmol) puis mis sous agitation. Du palladium adsorbé sur carbone à 10 % (1085,1 mg, 0,1 eq) a été ajouté. Le milieu réactionnel a été purgé avec H_2 pendant près de 1 h. La réaction a été agitée pendant 15 h sous une atmosphère d'hydrogène avec une pression d'environ 15 psi. Le milieu réactionnel a été filtré sur célite 421 puis évaporé. Les produits ont été purifiés par HPLC préparatif [30 % MeOH $\xrightarrow{15 \text{ min}}$ 50 % MeOH $\xrightarrow{3 \text{ min}}$ 90 % MeOH (5 min)]. Les produits obtenus sont **1113** ($T_{\text{R}} = 7,8$ min, 161,0 mg, 17 %) et **1112** ($T_{\text{R}} = 12,4$ min, 83,5 mg, 9 %). Rendement sur deux étapes : $\alpha = 16$ % ; $\beta = 31$ %.

1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- α -D-mannopyranoside (1112) : $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -59,0^\circ$ ($c = 1,2$, MeOH) ; RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ_{H} 7,15, 7,03, 6,98, 6,93, 6,79 (chacun 2H, s, H-2,6 $^{1-\text{VI}}$), 6,33 (1H, d, $J = 1,9$ Hz, H-1), 5,72 (1H, dd, $J = 10,2, 3,2$ Hz, H-3), 5,69-5,61 (2H, m, H-2, H-4), 4,53-4,39 (2H, m, H-5, H-6).

6a), 4,35 (1H, dd, $J = 12,2, 7,2$ Hz, H-6b) ; RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ_{C} 165,78, 165,20, 165,03, 164,71, 163,43 (5 \times , C-7 $^{I-VI}$), 145,98, 145,83, 145,73, 145,67, 145,59 (5 \times , C-3,5 $^{I-VI}$), 139,82, 139,41, 139,41, 139,26, 138,92 (5 \times , C-4 $^{I-VI}$), 118,92, 118,27, 118,22, 118,04, 117,87 (5 \times , C-1 $^{I-VI}$), 109,29, 109,16, 109,10, 108,92, 108,86 (5 \times , C-2,6 $^{I-VI}$), 91,04 (C-1), 71,30 (C-5), 69,42 (C-3), 68,37 (C-2), 65,72 (C-4), 63,20 (C-6).

1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-mannopyranoside (1113) : $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -80,1^\circ$ ($c = 2,3$, MeOH) ; RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ_{H} 7,05, 6,95, 6,93, 6,83, 6,74 (chacun 2H, s, H-2,6 $^{I-VI}$), 6,49 (1H, s, H-1), 5,83-5,76 (2H, m, H-2, H-3), 5,50 (1H, t, $J = 9,8$ Hz, H-4), 4,47 (1H, t, $J = 9,3$ Hz, H-5), 4,41 (1H, d, $J = 11,6$ Hz, H-6a), 4,29 (1H, dd, $J = 12,2, 8,2$ Hz, H-6b) ; RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ_{C} 165,73, 165,18, 165,03, 164,92, 163,55 (5 \times , C-7 $^{I-VI}$), 145,67, 145,65, 145,62, 145,62, 145,48 (5 \times , C-3,5 $^{I-VI}$), 139,47, 139,31, 139,13, 139,12, 138,83 (5 \times , C-4 $^{I-VI}$), 118,82, 118,37, 118,11, 118,02, 117,72 (5 \times , C-1 $^{I-VI}$), 109,11, 109,02, 108,95, 108,79, 108,71 (5 \times , C-2,6 $^{I-VI}$), 91,33 (C-1), 72,97 (C-5), 70,75 (C-3), 68,51 (C-2), 66,14 (C-4), 63,54 (C-6).

2.2.15 Synthèse des 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl-D-galactopyranosides (1114-1116)



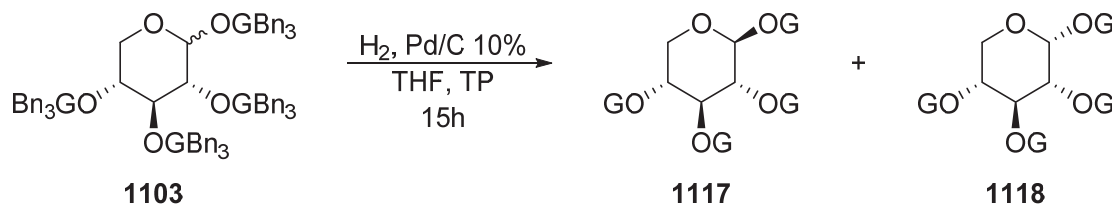
Les composés **1102** (1499,5 mg) ont été dissout dans du THF anhydre (150 ml, 229 ml mmol^{-1}) puis mis sous agitation. Du palladium adsorbé sur carbone à 10 % (697,4 mg, 0,1 eq) a été ajouté. Le milieu réactionnel a été purgé avec H_2 pendant près de 1 h. La réaction a été agitée pendant 15 h sous une atmosphère d'hydrogène avec une pression d'environ 15 psi. Le milieu réactionnel a été filtré sur célite 421 puis évaporé. Les produits ont été purifiés par HPLC préparatif [20 % MeOH $\xrightarrow{15 \text{ min}}$ 35 % MeOH (5 min) $\xrightarrow{1 \text{ sec}}$ 90 % MeOH (7 min)]. Les produits obtenus sont **1115** ($T_{\text{R}} = 12,9$

min, 39,0 mg, 6 %), **1116** ($T_R = 14,8$ min, 29,4 mg, 5 %) et **1114** ($T_R = 15,8$ min, 56,9 mg, 9 %). Rendement sur deux étapes : $\alpha = 11$ % ; $\beta = 7$ % ; Fur = 6 %.

1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- α -D-galactopyranoside (1114) : $[\alpha]_D^{20} +320,7^\circ$ ($c = 0,9$, MeOH) ; RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H 7,10, 7,01, 6,88, 6,78, 6,76 (chacun 2H, s, H-2,6 $^{I-VI}$), 6,66 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-1), 5,88 (1H, d, $J = 3,4$ Hz, H-4), 5,83 (1H, dd, $J = 10,9, 3,2$ Hz, H-3), 5,64 (1H, dd, $J = 10,8, 3,6$ Hz, H-2), 4,81 (1H, t, $J = 6,9$ Hz, H-5), 4,29 (1H, dd, $J = 11,2, 6,5$ Hz, H-6a), 4,18 (1H, dd, $J = 11,1, 6,8$ Hz, H-6b) ; RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C 165,34, 165,16, 165,06, 164,69, 164,06 (5 \times , C-7 $^{I-VI}$), 145,81, 145,76, 145,57, 145,54, 145,48 (5 \times , C-3,5 $^{I-VI}$), 139,63, 139,30, 139,25, 139,09, 138,89 (5 \times , C-4 $^{I-VI}$), 118,58, 118,15, 118,07, 117,84, 117,72 (5 \times , C-1 $^{I-VI}$), 109,18, 108,85, 108,77, 108,70, 108,70 (5 \times , C-2,6 $^{I-VI}$), 89,35 (C-1), 69,26 (C-5), 67,62 (C-3), 67,62 (C-4), 67,01 (C-2), 61,23 (C-6).

1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-galactopyranoside (1115) : $[\alpha]_D^{20} +170,5^\circ$ ($c = 0,1$, MeOH) ; RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H 7,01, 6,95, 6,93, 6,84, 6,74 (chacun 2H, s, H-2,6 $^{I-VI}$), 6,32 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-1), 5,80 (1H, dd, $J = 10,5, 3,3$ Hz, H-3), 5,71 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-4), 5,68 (1H, dd, $J = 10,3, 8,2$ Hz, H-2), 4,80 (1H, t, $J = 6,7$ Hz, H-5), 4,30 (1H, dd, $J = 11,9, 6,6$ Hz, H-6a), 4,22 (1H, dd, $J = 11,5, 6,3$ Hz, H-6b) ; RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C 165,54, 165,09, 164,94, 164,86, 164,23 (5 \times , C-7 $^{I-VI}$), 145,85, 145,84, 145,73, 145,63, 145,54 (5 \times , C-3,5 $^{I-VI}$), 139,81, 139,33, 139,25, 139,10, 139,05 (5 \times , C-4 $^{I-VI}$), 118,74, 118,41, 118,38, 118,21, 117,52 (5 \times , C-1 $^{I-VI}$), 109,18, 108,95, 108,90, 108,83, 108,83 (5 \times , C-2,6 $^{I-VI}$), 92,18 (C-1), 71,78 (C-5), 70,91 (C-3), 68,19 (C-2), 67,71 (C-4), 61,60 (C-6).

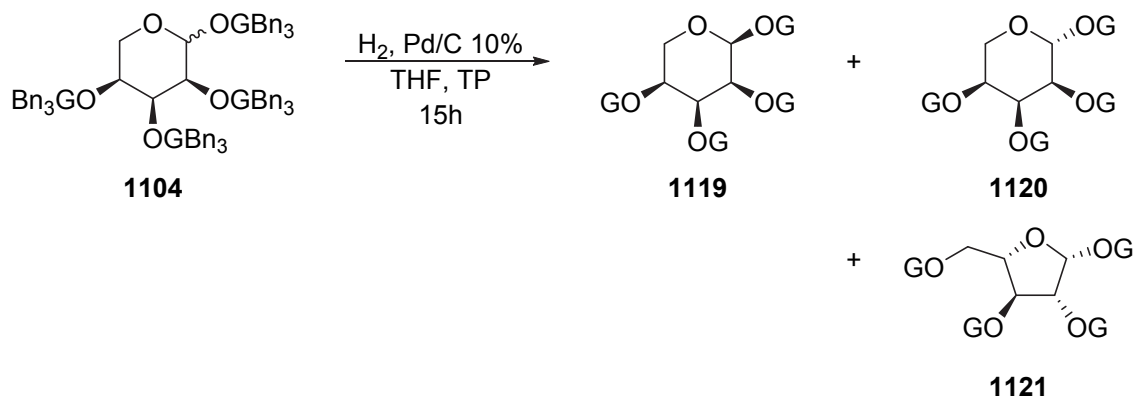
1,2,3,5,6-penta-*O*-galloyl- β -D-galactofuranoside (1116) : $[\alpha]_D^{20} +45,4^\circ$ ($c = 0,1$, MeOH) ; RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H 7,01, 7,00, 6,90, 6,89, 6,83 (chacun 2H, s, H-2,6 $^{I-VI}$), 6,57 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, H-1), 5,97 (1H, t, $J = 7,3$ Hz, H-3), 5,68 (1H, dd, $J = 7,7, 4,7$ Hz, H-2), 5,58 (1H, t, $J = 8,2$ Hz, H-5), 4,60 (1H, t, $J = 7,4$ Hz, H-4), 4,51 (1H, br d, $J = 11,2$ Hz, H-6a), 4,37 (1H, dd, $J = 12,5, 7,6$ Hz, H-6b) ; RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C 165,59, 165,09, 165,07, 164,95, 164,49 (5 \times , C-7 $^{I-VI}$), 145,70, 145,69, 145,67, 145,65, 145,57 (5 \times , C-3,5 $^{I-VI}$), 139,33, 139,30, 139,30, 138,97, 138,85 (5 \times , C-4 $^{I-VI}$), 118,85, 118,72, 118,45, 118,09, 117,90 (5 \times , C-1 $^{I-VI}$), 109,21, 109,10, 109,00, 109,00, 108,78 (5 \times , C-2,6 $^{I-VI}$), 93,04 (C-1), 77,98 (C-4), 75,91 (C-2), 73,29 (C-3), 71,60 (C-5), 62,23 (C-6).

2.2.16 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-D-xylopyranosides (**1117-1118**)

Les composés **1103** (2776,7 mg) ont été dissout dans du THF anhydre (277 ml, 184 mmol⁻¹) puis mis sous agitation. Du palladium adsorbé sur carbone à 10 % (1601,3 mg, 0,1 eq) a été ajouté. Le milieu réactionnel a été purgé avec H₂ pendant près de 1 h. La réaction a été agitée pendant 15 h sous une atmosphère d'hydrogène avec une pression d'environ 15 psi. Le milieu réactionnel a été filtré sur célite 421 puis évaporé. Les produits ont été purifiés par HPLC préparatif [30 % MeOH $\xrightarrow{15 \text{ min}}$ 50 % MeOH $\xrightarrow{1 \text{ min}}$ 90 % MeOH (4 min)]. Les produits obtenus sont **1118** (T_R = 9,9 min, 125,6 mg, 11 %) et **1117** (T_R = 12,8 min, 72,6 mg, 6 %). Rendement sur deux étapes : α = 14 % ; β = 25 %.

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-α-D-xylopyranoside (1117**)** : [α]_D²⁰ +67,6° (c = 1,1, MeOH) ; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ_H 7,05, 6,89, 6,87, 6,78 (chacun 2H, s, H-2,6^{I-IV}), 6,51 (1H, d, *J* = 3,7 Hz, H-1), 5,90 (1H, t, *J* = 10,0 Hz, H-3), 5,50-5,31 (2H, m, H-2, H-4), 4,14 (1H, dd, *J* = 11,2, 5,8 Hz, H-5a), 3,83 (1H, t, *J* = 11,1 Hz, H-5b) ; RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ_C 165,12, 165,03, 164,95, 164,21 (4×, C-7^{I-IV}), 145,89, 145,66, 145,58, 145,54 (4×, C-3,5^{I-IV}), 139,68, 139,30, 139,21, 139,07 (4×, C-4^{I-IV}), 118,33, 118,12, 117,99, 117,87 (4×, C-1^{I-IV}), 109,06, 108,97, 108,88, 108,88 (4×, C-2,6^{I-IV}), 89,22 (C-1), 69,85 (C-2), 69,14 (C-3), 68,57 (C-4), 60,74 (C-5).

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-β-D-xylopyranoside (1118**)** : [α]_D²⁰ -8,3° (c = 2,6, MeOH) ; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ_H 6,90, 6,87, 6,82, 6,82 (chacun 2H, s, H-2,6^{I-IV}), 6,17 (1H, d, *J* = 8,1 Hz, H-1), 5,85 (1H, t, *J* = 9,6 Hz, H-3), 5,43 (1H, dd, *J* = 9,8, 8,1 Hz, H-2), 5,26 (1H, td, *J* = 9,6, 5,7 Hz, H-4), 4,19 (1H, dd, *J* = 11,5, 5,5 Hz, H-5a), 3,91 (1H, t, *J* = 10,7 Hz, H-5b) ; RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ_C 164,96, 164,87, 164,54, 164,16 (4×, C-7^{I-IV}), 145,68, 145,57, 145,50, 145,46 (4×, C-3,5^{I-IV}), 139,60, 139,11, 139,11, 138,94 (4×, C-4^{I-IV}), 118,26, 118,19, 118,04, 117,55 (4×, C-1^{I-IV}), 109,01, 108,87, 108,80, 108,79 (4×, C-2,6^{I-IV}), 92,53 (C-1), 71,63 (C-3), 70,39 (C-2), 69,17 (C-4), 62,89 (C-5).

2.2.17 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-L-ribopyranoside (**1119-1121**)

Les composés **1104** (1346,0 mg) ont été dissout dans du THF anhydre (50 ml, 68 ml mmol⁻¹) puis mis sous agitation. Du palladium adsorbé sur carbone à 10 % (100,0 mg, 0,01 eq) a été ajouté. Le milieu réactionnel a été purgé avec H₂ pendant près de 1 h. La réaction a été agitée pendant 15 h sous une atmosphère d'hydrogène avec une pression d'environ 15 psi. Le milieu réactionnel a été filtré sur célite 421 puis évaporé. Les produits ont été purifiés par HPLC préparatif [15 % MeOH (20 min) $\xrightarrow{5 \text{ min}}$ 90 % MeOH (5 min)]. Les produits obtenus sont **1121** (T_R = 11,9 min, 27,6 mg, 5 %), **1120** (T_R = 15,1 min, 162,4 mg, 29 %) et **1119** (T_R = 20,9 min, 54,2 mg, 10 %). Rendement sur deux étapes : α = 10 % ; β = 30 % ; Fur = 5 %.

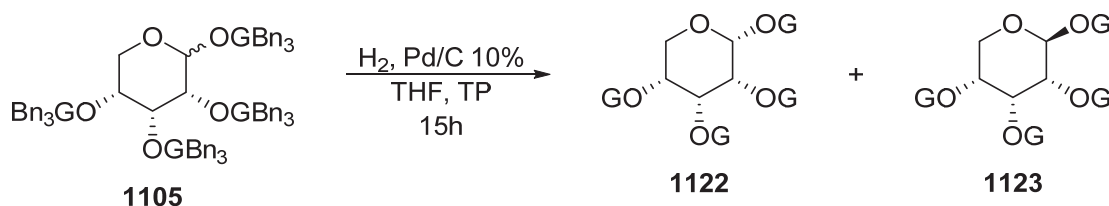
1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -L-ribopyranoside (1119**)** : $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -52,9^\circ$ (c = 0,8, MeOH) ; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ_{H} 7,03, 7,02, 6,88, 6,86 (chacun 2H, s, H-2,6^{I-IV}), 6,38 (1H, br s, H-1), 5,94 (1H, br s, H-3), 5,55 (1H, t, J = 3,8 Hz, H-2), 5,36 (1H, dt, J = 8,5, 3,9 Hz, H-4), 4,29 (1H, t, J = 10,1 Hz, H-5a), 4,03 (1H, dd, J = 11,6, 4,4 Hz, H-5b) ; RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ_{C} 165,70, 165,15, 165,03, 164,98 (4×, C-7^{I-IV}), 145,66, 145,57, 145,55, 145,50 (4×, C-3,5^{I-IV}), 139,33, 139,07, 138,99, 138,90 (4×, C-4^{I-IV}), 118,99, 118,67, 118,58, 118,58 (4×, C-1^{I-IV}), 109,39, 109,26, 109,12, 108,99 (4×, C-2,6^{I-IV}), 89,13 (C-1), 67,33 (C-3), 67,04 (C-2), 66,33 (C-4), 59,13 (C-5).

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -L-ribopyranoside (1120**)** : $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +54,8^\circ$ (c = 2,2, MeOH) ; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ_{H} 7,02, 6,95, 6,81, 6,78 (chacun 2H, s, H-2,6^{I-IV}), 6,24 (1H, d, J = 8,0 Hz, H-1), 5,98 (1H, t, J = 2,9 Hz, H-3), 5,47-5,30 (2H, m, H-2, H-4), 4,22 (1H, dd, J = 11,2, 5,1 Hz, H-5a), 4,07 (1H, t, J = 10,6 Hz, H-5b) ; RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ_{C} 164,80, 164,78, 164,52, 164,37 (4×, C-7^{I-IV}), 145,73, 145,69, 145,55, 145,55 (4×, C-3,5^{I-IV}), 139,68, 139,20, 139,10, 139,07 (4×, C-4^{I-IV}),

118,36, 118,34, 118,01, 117,54 (4×, C-1^{I-IV}), 108,98, 108,92, 108,82, 108,72 (4×, C-2,6^{I-IV}), 90,72 (C-1), 68,61 (C-2), 67,91 (C-3), 66,56 (C-4), 62,26 (C-5).

1,2,3,5-tétra-*O*-galloyl-β-L-ribofuranoside (1121) : $[\alpha]_D^{20} +5,5^\circ$ (c = 0,5, MeOH) ; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ_H 7,03, 6,97, 6,95, 6,90 (chacun 2H, s, H-2,6^{I-V}), 6,37 (1H, s, H-1), 5,66 (1H, d, *J* = 4,8 Hz, H-2), 5,59 (1H, t, *J* = 5,8 Hz, H-3), 4,71-4,59 (2H, m, H-4, H-5a), 4,23 (1H, dd, *J* = 12,6, 9,1 Hz, H-5b) ; RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ_C 165,57, 165,03, 164,50, 164,15 (4×, C-7^{I-V}), 145,76, 145,66, 145,64, 145,60 (4×, C-3,5^{I-V}), 139,46, 139,20, 139,15, 138,80 (4×, C-4^{I-V}), 118,75, 118,09, 118,04, 117,99 (4×, C-1^{I-V}), 109,05, 108,91, 108,91, 108,74 (4×, C-2,6^{I-V}), 98,51 (C-1), 79,69 (C-4), 73,95 (C-2), 71,35 (C-3), 65,70 (C-5).

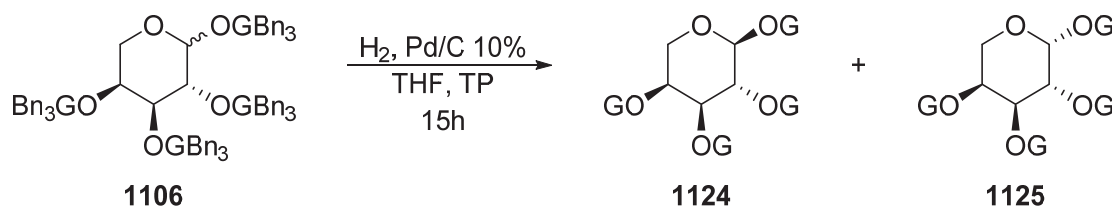
2.2.18 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-D-ribopyranosides (**1122-1123**)



Les composés **1105** (1960,0 mg) ont été dissout dans du THF anhydre (99 ml, 93 ml mmol⁻¹) puis mis sous agitation. Du palladium adsorbé sur carbone à 10 % (224,0 mg, 0,02 eq) a été ajouté. Le milieu réactionnel a été purgé avec H₂ pendant près de 1 h. La réaction a été agitée pendant 15 h sous une atmosphère d'hydrogène avec une pression d'environ 15 psi. Le milieu réactionnel a été filtré sur célite 421 puis évaporé. Les produits ont été purifiés par HPLC préparatif [15 % MeOH (20 min) $\xrightarrow{5\ min}$ 90 % MeOH (5 min)]. Les produits obtenus sont **11213** (*T_R* = 11,3 min, 30,4 mg, 4 %) et **11202** (*T_R* = 14,6 min, 20,1 mg, 2 %). Rendement sur deux étapes : α = 1 % ; β = 2 %.

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-α-D-ribopyranoside (1122) : $[\alpha]_D^{20} +69,4^\circ$ (c = 0,05, MeOH) ; RMN ¹H et ¹³C identiques à ceux du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-α-L-ribopyranoside (**1119**).

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-β-D-ribopyranoside (1123) : $[\alpha]_D^{20} -40,5^\circ$ (c = 0,07, MeOH) ; RMN ¹H et ¹³C identiques à ceux du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-β-L-ribopyranoside (**1120**)

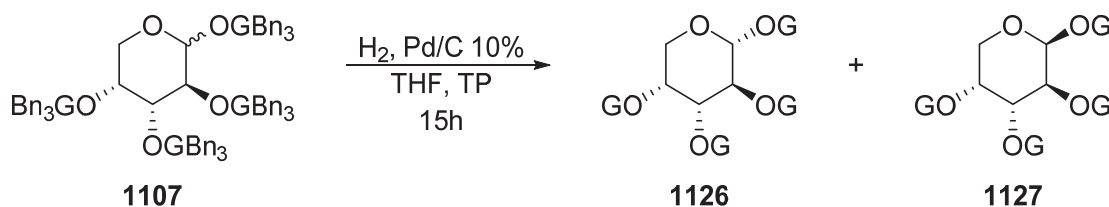
2.2.19 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-L-arabinopyranosides (**1124-1125**)

Les composés **1106** (1633,6 mg) ont été dissout dans du THF anhydre (70 ml, 79 mmol) puis mis sous agitation. Du palladium adsorbé sur carbone à 10 % (117,6 mg, 0,01 eq) a été ajouté. Le milieu réactionnel a été purgé avec H₂ pendant près de 1 h. La réaction a été agitée pendant 15 h sous une atmosphère d'hydrogène avec une pression d'environ 15 psi. Le milieu réactionnel a été filtré sur célite 421 puis évaporé. Les produits ont été purifiés par HPLC préparatif [15 % ACN $\xrightarrow{22 \text{ min}}$ 40 % ACN $\xrightarrow{1 \text{ sec}}$ 90 % ACN(6 min)]. Les produits obtenus sont **1124** ($T_R = 8,1 \text{ min}$, 150,7 mg, 22 %) et **1125** ($T_R = 9,1 \text{ min}$, 48,5 mg, 7 %). Rendement sur deux étapes : $\alpha = 29 \%$; $\beta = 9 \%$.

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -L-arabinopyranoside (1124**)** : $[\alpha]_D^{20} +170,1^\circ$ ($c = 2,2$, MeOH) ; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H 7,02, 6,94, 6,87, 6,78 (chacun 2H, s, H-2,6^{I-IV}), 6,12 (1H, d, $J = 7,2 \text{ Hz}$, H-1), 5,69 (2H, m, H-2, H-3), 5,56 (1H, br s, H-4), 4,26 (1H, br d, $J = 13,0 \text{ Hz}$, H-5a), 4,10 (1H, br d, $J = 12,6 \text{ Hz}$, H-5b) ; RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_C 165,09, 165,05, 164,81, 164,36 (4 \times , C-7^{I-IV}), 145,77, 145,74, 145,60, 145,52 (4 \times , C-3,5^{I-IV}), 139,70, 139,18, 139,10, 139,07 (4 \times , C-4^{I-IV}), 118,86, 118,44, 118,28, 117,66 (4 \times , C-1^{I-IV}), 109,10, 108,91, 108,82, 108,82 (4 \times , C-2,6^{I-IV}), 92,75 (C-1), 70,83 (C-3), 68,36 (C-4), 68,34 (C-2), 65,15 (C-5).

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -L-arabinopyranoside (1125**)** : $[\alpha]_D^{20} +78,5^\circ$ ($c = 0,8$, MeOH) ; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H 7,07, 7,02, 6,81, 6,79 (chacun 2H, s, H-2,6^{I-IV}), 6,57 (1H, d, $J = 3,5 \text{ Hz}$, H-1), 5,78 (1H, dd, $J = 10,8, 3,3 \text{ Hz}$, H-3), 5,70 (1H, d, $J = 3,5 \text{ Hz}$, H-4), 5,64 (1H, dd, $J = 10,8, 3,6 \text{ Hz}$, H-2), 4,30 (1H, d, $J = 13,2 \text{ Hz}$, H-5a), 4,00 (1H, t, $J = 13,0 \text{ Hz}$, H-5b) ; RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_C 165,15, 165,04, 164,85, 164,23 (4 \times , C-7^{I-IV}), 145,78, 145,66, 145,51, 145,46 (4 \times , C-3,5^{I-IV}), 139,63, 139,32, 139,10, 139,05 (4 \times , C-4^{I-IV}), 118,55, 118,17, 117,86, 117,72 (4 \times , C-1^{I-IV}), 109,01, 108,79, 108,68, 108,68 (4 \times , C-2,6^{I-IV}), 89,79 (C-1), 68,50 (C-4), 67,28 (C-3), 67,17 (C-2), 62,90 (C-5).

2.2.20 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-D-arabinopyranoside (**1126-1127**)

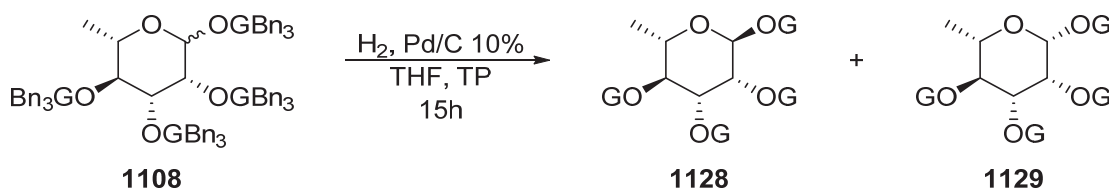


Les composés **1107** (1314 mg) ont été dissout dans du THF anhydre (55 ml, 77 ml mmol⁻¹) puis mis sous agitation. Du palladium adsorbé sur carbone à 10 % (172,1 mg, 0,02 eq) a été ajouté. Le milieu réactionnel a été purgé avec H₂ pendant près de 1 h. La réaction a été agitée pendant 15 h sous une atmosphère d'hydrogène avec une pression d'environ 15 psi. Le milieu réactionnel a été filtré sur célite 421 puis évaporé. Les produits ont été purifiés par HPLC préparatif [15 % ACN $\xrightarrow{22 \text{ min}}$ 40 % ACN $\xrightarrow{1 \text{ sec}}$ 90 % ACN(6 min)]. Les produits obtenus sont **1126** (T_R = 8,4 min, 129,3 mg, 24 %) et **1127** (T_R = 9,8 min, 40,7 mg, 8 %). Rendement sur deux étapes : $\alpha = 25 \%$; $\beta = 8 \%$.

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -D-arabinopyranoside (1126**)** : $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -72,9^\circ$ (c = 4,6, MeOH) ; RMN ¹H et ¹³C identiques à ceux du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -L-arabinopyranoside (**1124**).

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -D-arabinopyranoside (1127**)** : $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -146,1^\circ$ (c = 0,6, MeOH) ; RMN ¹H et ¹³C identiques à ceux du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -L-arabinopyranoside (**1125**).

2.2.21 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-L-rhamnopyranosides (**1128-1129**)



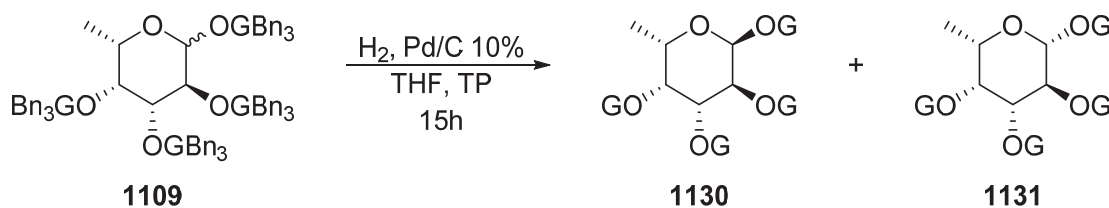
Les composés **1108** (1129,4 mg) ont été dissout dans du THF anhydre (100 ml, 164 ml mmol⁻¹) puis mis sous agitation. Du palladium adsorbé sur carbone à 10 % (300,0 mg, 0,05 eq) a été ajouté. Le milieu réactionnel a été purgé avec H₂ pendant près de 1 h. La réaction a été agitée pendant 15 h sous une atmosphère d'hydrogène avec une pression d'environ 15 psi. Le milieu réactionnel a été filtré sur célite 421 puis évaporé. Les produits ont été purifiés par HPLC préparatif [15 % ACN

$\xrightarrow{20 \text{ min}} 20 \% \text{ ACN} \xrightarrow{5 \text{ min}} 90 \% \text{ ACN (5 min)}]$. Les produits obtenus sont **1129** ($T_R = 13,0 \text{ min}$, 108,2 mg, 23 %) et **1128** ($T_R = 21,1 \text{ min}$, 125,2 mg, 27 %). Rendement sur deux étapes : $\alpha = 26 \% ; \beta = 23 \%$.

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -L-rhamnopyranoside (1128) : $[\alpha]_D^{20} +70,5^\circ$ ($c = 1,5$, MeOH) ; RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H 7,12, 7,02, 6,95, 6,77 (chacun 2H, s, H-2,6 $^{I-IV}$), 6,22 (1H, s, H-1), 5,67-5,55 (2H, m, H-2, H-3), 5,47 (1H, t, $J = 9,9 \text{ Hz}$, H-4), 4,21 (1H, dq, $J = 9,0, 6,5 \text{ Hz}$, H-5), 1,26 (3H, d, $J = 6,1 \text{ Hz}$, H-6) ; RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C 165,20, 165,04, 164,60, 163,55 (4 \times , C-7 $^{I-IV}$), 145,90, 145,74, 145,67, 145,49 (4 \times , C-3,5 $^{I-IV}$), 139,68, 139,32, 139,19, 139,13 (4 \times , C-4 $^{I-IV}$), 118,24, 118,24, 117,93 (4 \times , C-1 $^{I-IV}$), 109,14, 109,02, 108,87, 108,76 (4 \times , C-2,6 $^{I-IV}$), 90,92 (C-1), 70,06 (C-4), 69,38 (C-3), 68,98 (C-5), 68,54 (C-2), 17,68 (C-6).

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -L-rhamnopyranoside (1129) : $[\alpha]_D^{20} +32,0^\circ$ ($c = 1,8$, MeOH) ; RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H 7,05, 6,91, 6,83, 6,74 (chacun 2H, s, H-2,6 $^{I-IV}$), 6,36 (1H, s, H-1), 5,77 (1H, d, $J = 3,3 \text{ Hz}$, H-2), 5,65 (1H, dd, $J = 10,2, 3,2 \text{ Hz}$, H-3), 5,37 (1H, t, $J = 9,8 \text{ Hz}$, H-4), 4,13 (1H, m, H-5), 1,27 (3H, d, $J = 6,0 \text{ Hz}$, H-6) ; RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C 165,22, 165,15, 165,05, 163,80 (4 \times , C-7 $^{I-IV}$), 145,71, 145,69, 145,68, 145,52 (4 \times , C-3,5 $^{I-IV}$), 139,49, 139,16, 139,16, 139,10 (4 \times , C-4 $^{I-IV}$), 118,61, 118,49, 118,38, 117,98 (4 \times , C-1 $^{I-IV}$), 109,18, 109,09, 108,91, 108,80 (4 \times , C-2,6 $^{I-IV}$), 91,24 (C-1), 70,97 (C-4), 70,59 (C-2), 68,87 (C-3), 65,61 (C-5), 17,67 (C-6).

2.2.22 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-L-fucopyranosides (**1130-1131**)



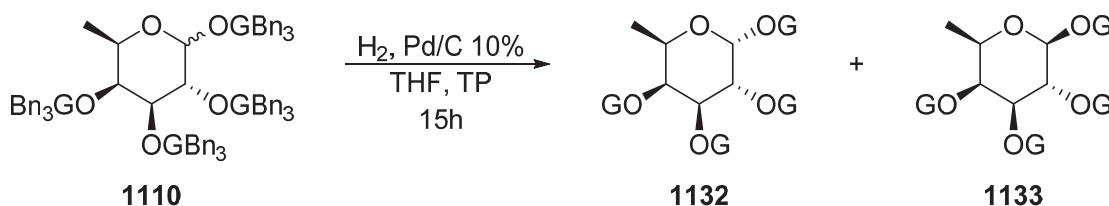
Les composés **1109** (1355,6 mg) ont été dissout dans du THF anhydre (100 ml, 137 ml mmol $^{-1}$) puis mis sous agitation. Du palladium adsorbé sur carbone à 10 % (300,0 mg, 0,04 eq) a été ajouté. Le milieu réactionnel a été purgé avec H $_2$ pendant près de 1 h. La réaction a été agitée pendant 15 h sous une atmosphère d'hydrogène avec une pression d'environ 15 psi. Le milieu réactionnel a été filtré sur célite 421 puis évaporé. Les produits ont été purifiés par HPLC préparatif [10 % ACN

$\xrightarrow{20 \text{ min}} 15 \% \text{ ACN} \xrightarrow{10 \text{ min}} 25 \% \text{ ACN} \xrightarrow{5 \text{ min}} 90 \% \text{ ACN}(10 \text{ min})]$. Les produits obtenus sont **1131** ($T_R = 29,5 \text{ min}$, $18,0 \text{ mg}$, 3%) et **1130** ($T_R = 31,4 \text{ min}$, $27,8 \text{ mg}$, 5%). Rendement sur deux étapes : $\alpha = 6 \%$; $\beta = 4 \%$.

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -L-fucopyranoside (1130) : $[\alpha]_D^{20} -122,1^\circ$ ($c = 0,3$, MeOH) ; RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H 7,07, 7,02, 6,79, 6,76, (chacun 2H, s, H-2,6 $^{I-IV}$), 6,57 (1H, d, $J = 3,6 \text{ Hz}$, H-1), 5,78 (1H, dd, $J = 11,0, 3,3 \text{ Hz}$, H-3), 5,64 (1H, d, $J = 3,5 \text{ Hz}$, H-4), 5,59 (1H, dd, $J = 10,9, 3,6 \text{ Hz}$, H-2), 4,59 (1H, q, $J = 6,6 \text{ Hz}$, H-5), 1,12 (3H, d, $J = 6,4 \text{ Hz}$, H-6) ; RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C 165,23, 165,19, 165,09, 164,25 (4 \times , C-7 $^{I-IV}$), 145,80, 145,74, 145,53, 145,47 (4 \times , C-3,5 $^{I-IV}$), 139,52, 139,25, 139,12, 139,05 (4 \times , C-4 $^{I-IV}$), 118,30, 118,27, 118,07, 117,85 (4 \times , C-1 $^{I-IV}$), 109,07, 108,81, 108,70, 108,65 (4 \times , C-2,6 $^{I-IV}$), 89,49 (C-1), 70,54 (C-4), 67,96 (C-3), 67,62 (C-5), 66,99 (C-2), 15,92 (C-6).

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -L-fucopyranoside (1131) : $[\alpha]_D^{20} -134,3^\circ$ ($c = 0,4$, MeOH) ; RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H 7,01, 6,93, 6,83, 6,73 (chacun 2H, s, H-2,6 $^{I-IV}$), 6,18 (1H, d, $J = 8,0 \text{ Hz}$, H-1), 5,68 (1H, dd, $J = 10,5, 3,4 \text{ Hz}$, H-3), 5,62 (1H, dd, $J = 10,5, 7,9 \text{ Hz}$, H-2), 5,48 (1H, d, $J = 3,5 \text{ Hz}$, H-4), 4,48 (1H, q, $J = 6,6 \text{ Hz}$, H-5), 1,14 (3H, d, $J = 6,3 \text{ Hz}$, H-6) ; RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C 165,33, 165,02, 164,79, 164,31 (4 \times , C-7 $^{I-IV}$), 145,74, 145,72, 145,53, 145,45 (4 \times , C-3,5 $^{I-IV}$), 139,61, 139,11, 139,10, 138,98 (4 \times , C-4 $^{I-IV}$), 118,50, 118,39, 118,23, 117,63 (4 \times , C-1 $^{I-IV}$), 109,03, 108,84, 108,72, 108,72 (4 \times , C-2,6 $^{I-IV}$), 92,17 (C-1), 71,19 (C-3), 70,35 (C-4), 69,91 (C-5), 68,06 (C-2), 15,87 (C-6).

2.2.23 Synthèse des 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl-D-fucopyranosides (**1132-1133**)



Les composés **1110** ($1129,4 \text{ mg}$) ont été dissout dans du THF anhydre (100 ml , 164 mmol^{-1}) puis mis sous agitation. Du palladium adsorbé sur carbone à 10% ($300,0 \text{ mg}$, $0,05 \text{ eq}$) a été ajouté. Le milieu réactionnel a été purgé avec H_2 pendant près de 1 h . La réaction a été agitée pendant 15 h sous une atmosphère d'hydrogène avec une pression d'environ 15 psi . Le milieu réactionnel a été filtré

sur célite 421 puis évaporé. Les produits ont été purifiés par HPLC préparatif [10 % ACN $\xrightarrow{20 \text{ min}}$ 15 % ACN $\xrightarrow{10 \text{ min}}$ 25 % ACN $\xrightarrow{5 \text{ min}}$ 90 % ACN(10 min)]. Les produits obtenus sont **1133** (T_R = 29,4 min, 13,4 mg, 3 %) et **1132** (T_R = 31,2 min, 23,2 mg, 5 %). Rendement sur deux étapes : α = 5 % ; β = 3 %.

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -D-fucopyranoside (1132) : $[\alpha]_D^{20} +165,7^\circ$ (c = 0,03, MeOH) ; RMN ^1H et ^{13}C identiques à ceux du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -L-rhamnopyranoside (**1130**).

1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -D-fucopyranoside (1133) : $[\alpha]_D^{20} +19,0^\circ$ (c = 0,4, MeOH) ; RMN ^1H et ^{13}C identiques à ceux du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -D-rhamnopyranoside (**1131**)

2.3. Activité antivirale¹

2.3.1 Culture cellulaire et virale

Des cellules de rein du singe vert africain (Vero, ATCC CCL-81) ont été mises en culture dans le milieu minimum essentiel M199 (Microcell, RI, USA) contenant les sels d'Eagle et de la L-glutamine, auquel ont été ajoutés du sérum fœtal bovin (10 %, FBS, Hyclone, Logan, USA), de la pénicilline (100 I.U. ml⁻¹) et de la streptomycine (100 µg ml⁻¹) (Mediatech Cellgro, VA, USA). Les cellules ont été maintenues à 37 °C dans un environnement humidifié contenant 5 % de CO₂. Le milieu de maintenance était identique au milieu de culture, mais avec seulement 2 % de FBS. Un stock de virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1, ATCC VR-733), mis en culture dans des cellules Vero, était entreposé à -80 °C avant leurs utilisations.

2.3.2 Évaluation de l'activité sur plaque 96 puits

Des cellules Vero ont été mises en culture dans des plaques 96 puits puis infectées, ou pas, par le virus. Les plaques ont été incubées 1 h à 37 °C dans une atmosphère humidifiée contenant 5 % de CO₂. Les cellules ont par la suite été lavées avec du PBS puis traitée avec du milieu de maintenance dans lequel étaient dissouts, ou pas, les composés à tester ou un contrôle (acyclovir). Après 72 h d'incubation à 37 °C, la quantité de cellules encore vivantes a été estimée par le test de la réduction de la résazurine [356]. Pour ce test, une solution de résazurine (25 µg ml⁻¹ dans HBSS) a été ajoutée

¹ Les tests d'activité biologique ont été réalisés par Karl Girard-Lalancette.

dans chaque puits (150 µl). La fluorescence a été mesurée avec un fluorimètre automatique pour plaques (Fluoroskan Ascent F1, Labsystems) à des longueurs d'onde d'excitation et d'émission de 530 et 590 nm, respectivement. La fluorescence mesurée est proportionnelle à l'activité métabolique des cellules dans chaque puits. Le taux de survie des cellules a été calculé à partir de la fluorescence des puits expérimentaux comparée à celle des puits de contrôle. L'activité antivirale a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\%P_i = \frac{F_i - F_0}{F_{sv} - F_0} \times 100,$$

où %P_i est le pourcentage de protection à une concentration donnée, F_i est la fluorescence dans un puits contenant la substance, F₀ est la fluorescence dans un puits contenant seulement le virus et F_{sv} est la fluorescence dans un puits ne contenant aucun virus. La concentration inhibant 50 % de la prolifération virale a ensuite été calculée (EC₅₀). La toxicité des substances a aussi pu être déterminée durant ce test. Pour ce faire, une série de puits contenant des cellules Vero n'ont pas été infectées avec le virus. La toxicité a donc été calculée avec la formule suivante :

$$\%T_i = \frac{F_i - F_b}{F_0 - F_b} \times 100,$$

où %T_i est le pourcentage de survie cellulaire, F_i est la fluorescence dans un puits contenant la substance, F_b est la fluorescence dans un puits ne contenant que de la résazurine et F₀ est la fluorescence dans un puits ne contenant que des cellules. La concentration inhibant à 50 % la croissance des cellules a ensuite été calculée (IC₅₀).

2.3.3 Mode d'action

Les cellules et les virus ont été incubés avec de l'acyclovir ou des extraits à différentes étapes du cycle viral afin de déterminer le mode d'action [382] :

- A. Protection : les cellules ont été incubées avec les échantillons pendant 1 h avant l'inoculation avec le virus ;
- B. Absorption : les virus et les échantillons ont été mélangés juste avant d'être ajoutés aux cellules ;
- C. Réplication : Les échantillons ont été ajoutés au milieu après l'inoculation avec le virus ;

D. Direct : Les virus ont été traités avec les échantillons pendant 1 h avant d'être ajoutés aux cellules.

Cette méthodologie est schématisée à la figure 95 (p. 316).

2.4. Activité antioxydante

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode ORAC modifiée de Ou *et al.* [448]. Les expériences ont été réalisées avec des plaques 384 puits noires (Cole-Parmer, Montréal, Qc, Canada) et un lecteur de plaque automatisé Fluoroskan Ascent FLTM, équipé d'un injecteur automatique (VWR, Mont-Royal, Qc, Canada). Quatre concentrations de Trolox en quadruplicat (1,56, 3,13, 6,25 et 12,5 μ M), utilisé comme contrôle, et un gradient de 16 concentrations de l'échantillon à tester sans réplication ont été préparés. Les expériences ont été effectuées à 40 °C et dans un tampon phosphate à pH 7,4. De la fluorescéine dissoute dans l'eau (81,6 nM) a été ajoutée (75 μ l) puis l'expérience a été déclenchée ($t = 0$) en ajoutant 15 μ l de dihydrochlorure de 2,2'-azobis(2-amidinopropane) (AAPH, 375 mM). Le fluorimètre a été programmé pour enregistrer la fluorescence ($\lambda_{\text{ex}} = 485$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 530$ nm) de la fluorescéine à toutes les minutes après l'addition de l'AAPH et ce, pendant 60 minutes. Pour obtenir les résultats, les aires sous les courbes de la fluorescence en fonction du temps ont d'abord été calculées, en conservant seulement celles où une diminution de 95 % de la fluorescence a été observée à 60 min. Ces valeurs ont été portées sur un graphique avec les concentrations en abscisse. La valeur ORAC est calculée en comparant cette courbe avec celle obtenue par le Trolox et est exprimée en équivalent Trolox.

2.5. Activité anti-inflammatoire

Les cellules utilisées (RAW264.7, ATCC TIB-71) ont été mises en culture dans le milieu d'Eagle modifié par Dulbecco (Cellgro) et dans lequel ont été ajoutés du sérum fœtal bovin (10 %, Hyclone), des vitamines (1 \times), de la pénicilline (100 I.U. ml⁻¹) et de la streptomycine (100 μ g ml⁻¹) (Mediatech Cellgro). Les cellules ont été incubées à 37 °C dans un environnement humide contenant 5 % de CO₂. Des cellules en croissance exponentielle ont été mise en plaque 96 puits (BD Falcon) à une densité de $7,5 \times 10^4$ cellules puit⁻¹ (100 μ l puit⁻¹). Après avoir incubé pendant toute une nuit, certaines cellules ont été traitées avec du N^o-nitro-L-arginate de méthyle (L-NAME, contrôle positif) ou une série géométrique de concentration des composés à tester, dilués dans un mélange H₂O/DMSO 199:1. La concentration finale de DMSO a été maintenue à 0,25 % (v/v) pour éviter la toxicité du solvant.

Les cellules ont ensuite été stimulées avec du lipopolysaccharide de *E. coli* (490 ng ml⁻¹, 50 µl) pour environ 24 heures. Le surnageant a été recueilli pour y quantifier l'oxyde nitrique par la réaction de Griess [449]. Ainsi, 100 µl de surnageant ont été incubée avec 50 µl de sulfanilamide 1 % et 50 µl de dihydrochlorure de N-1-naphthyléthylènediamine dans l'acide phosphorique (H₃PO₄, 2,5 %). La réaction a été réalisée pendant 20 minutes à température ambiante. L'absorbance a ensuite été mesurée à l'aide d'un lecteur de plaque automatisé (Thermo, Labsystems) en utilisant une longueur d'onde de 540 nm. Le résultat a été comparé avec une courbe standard réalisée avec du nitrite de sodium (NaNO₂).

Après la lecture, les plaques ont été rincées avec du PBS puis congelées à -80 °C pour la quantification de l'ADN (voir protocole ci-dessous).

2.6. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne a été évaluée en utilisant la méthode de microdilution mise au point par Banfi *et al.* [357]. Une série géométrique de concentration des composés à évaluer, dilués dans un mélange milieu/DMSO 199:1, a été ajouté (100 µl) dans une plaque 96 puits. La concentration finale de DMSO a été maintenue à 0,25 % (v/v) pour éviter la toxicité du solvant. Des bactéries, *Escherichia coli* (Gram négatif, ATCC 25922) ou *Staphylococcus aureus* (Gram positif, ATCC 25923), ou une levure, *Candida albicans* (ATCC 10231), en croissance exponentielles dans 100 µl de milieu nutritif (Difco), pour les bactéries, ou de dextrose de Sabouraud (Difco) pour la levure, ont été ajoutées. La densité était de 50 bact. µl⁻¹ (pour *E. coli*), de 350 bact. µl⁻¹ (pour *S. aureus*) ou de 20 lev. µl⁻¹ (pour *C. albicans*). Les plaques ont été incubées pendant 24 h à 37 °C. La densité optique a été mesurée 6 h et 24 h après l'ajout des composés à l'aide d'un lecteur de plaque automatisé (Thermo, Labsystems) en utilisant une longueur d'onde de 600 nm (bactérie) ou de 540 nm (levure). La concentration minimale inhibitrice (CMI₈₀) est la plus faible concentration avec laquelle la croissance microbienne a été réduite à 80 % et a été calculée à partir des paramètres d'une courbe sigmoïdale concentration vs densité optique.

2.7. Activité anticancéreuse

L'activité anticancéreuse a été évaluée selon une méthode similaire à celle décrite par Mshvildadze *et al.* [17]. Les lignées cellulaires, soit les carcinomes pulmonaires (A549, ATCC CCL-185), les adénocarcinomes colorectaux (DLD-1, ATCC CCL-221) et les fibroblastes dermiques

(WS1, ATCC CRL-1502), ont été obtenues de la "American Type Culture Collection" (ATCC). Toutes les lignées ont été cultivées dans un milieu minimum essentiel contenant des sels équilibrés d'Earle et de la L-glutamine (Mediatech, Cellgro) et auquel ont été ajoutés du sérum fœtal bovin (10 %, Hyclone), des vitamines (1×), de la pénicilline (100 I.U. ml^{-1}) et de la streptomycine (100 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Les cellules ont été maintenues à 37 °C dans un environnement humidifié contenant 5 % de CO_2 . Les cellules, dans leur phase exponentielle de croissance, ont été mises en plaques 96 puits (Costar, Corning Inc.) à une densité de 5 000 cellules par puits (100 μl) et laissées pour adhérer pendant 16 h avant toute intervention. Une série géométrique de concentrations en triplicata de chaque composé dissout dans le DMSO a été ajoutée (100 μl par puit) avant d'incuber les cellules pour 48 h. La concentration finale de DMSO dans le milieu de culture a été maintenue à 0,25 % (v/v) pour éviter la toxicité du solvant. La cytotoxicité a été évaluée en utilisant le test de réduction de la résazurine [356] ainsi que par la quantification de l'ADN cellulaire après un lyse des cellules [450].

2.7.1 Réduction de la résazurine

Pour ce test, une solution de résazurine (25 $\mu\text{g ml}^{-1}$ dans HBSS) a été ajoutée dans chaque puits (150 μl). La fluorescence a été mesurée avec un fluorimètre automatique pour plaques (Fluoroskan Ascent F1, Labsystems) à des longueurs d'onde d'excitation et d'émission de 530 et 590 nm, respectivement. La fluorescence mesurée est proportionnelle à l'activité métabolique des cellules dans chaque puit. Le taux de survie des cellules a été calculé à partir de la fluorescence des puits expérimentaux comparée à celle des puits de contrôle. La cytotoxicité est exprimée par la moyenne des concentrations inhibant 50 % de la croissance cellulaire.

Après la lecture, les plaques ont été rincées avec du PBS puis congelées à -80 °C pour la quantification de l'ADN.

2.7.2 Quantification de l'ADN cellulaire

Les plaques ont été laissées 10 min à température ambiante afin qu'elles décongelent. Une solution de dodécylsulfate de sodium (SDS, 347 μM , 100 μl) a été ajoutée dans chaque puit. Les plaques ont été laissées à température ambiante pendant 1 h puis congelées à -80 °C. Après décongélation (environ 15 min), une solution de Hoechst 33342 (Sigma, 100 μl) à 30 $\mu\text{g ml}^{-1}$ dans un tampon hypersalin (10 mM Tris HCl, pH 7,4, 1 mM EDTA et 2 M NaCl) a été ajoutée. Les plaques ont ensuite été incubées, à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 1 h. La fluorescence

a ensuite été mesurée avec le fluorimètre automatique pour plaques (Fluoroskan Ascent F1, Labsystems) à des longueurs d'onde d'excitation et d'émission de 355 et 460 nm, respectivement. Le taux de survie des cellules a été calculé à partir de la fluorescence des puits expérimentaux comparée à celle des puits de contrôle.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Synthèse

La synthèse des composés a été réalisée de la même manière que Ren *et al.* en 2006 [446]. D'abord, les fonctions phénoliques du gallate de méthyle ont été protégées avec des groupements benzyles puis l'acide carboxylique a été régénéré directement par hydrolyse basique (figure 141). Le produit (**1088**) a été purifié par recristallisation dans l'éthanol pour un rendement de 92 %. Ce produit a été synthétisé à plusieurs reprises pour préparer l'ensemble des composés à la suite.

Les sucres qui ont été transformés sont le D-glucose (**1089**), le D-mannose (**1090**), le D-galactose (**1091**), le D-xylose (**1092**), le L-ribose (**1093**), le D-ribose (**1094**), le L-arabinose (**1095**), le D-arabinose (**1096**), le L-rhamnose (**1097**), le L-fucose (**1098**) et le D-fucose (**1099**). La réaction de Steglich [451] a été utilisée afin de brancher des acides galliques à toutes les positions de ces sucres. Des rendements entre 70-227 % ont été obtenus. Les valeurs supérieures à 100 % s'explique par la présence d'une impureté qui co-éluit avec les produits de la réaction. Ce composé a été caractérisé comme étant le *N*-cyclohexyl-*N*-(cyclohexylcarbamoyl)-3,4,5-tribenzyloxybenzamide (**1134**, figure 142). Ce dernier apparait par réarrangement de l'intermédiaire réactionnel [452].

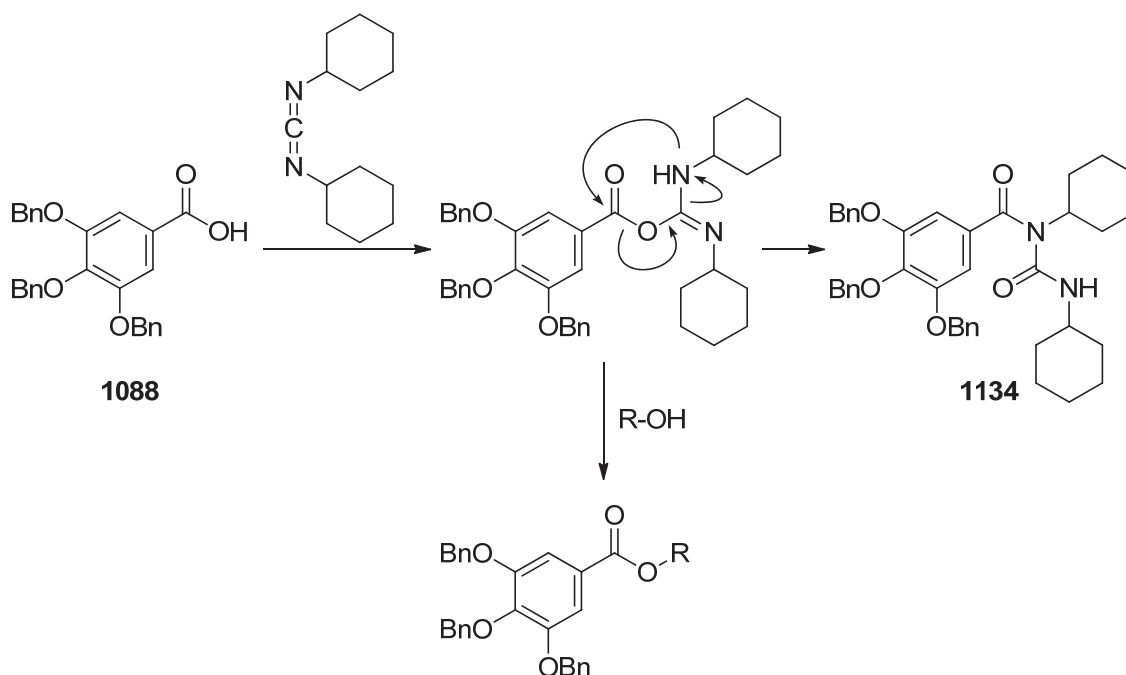


Figure 142 : Sous-produit de la réaction de galloylation

Dans la méthode développée par Ren *et al.* [446], la séparation chromatographique des anomères a été effectuée après cette étape. Malheureusement, il n'a pas été possible de reproduire cette séparation. Il a donc été décidé de séparer les anomères par HPLC, après l'étape de déprotection des groupes benzyles. Celle-ci a été réalisée de manière classique par hydrogénation catalytique en utilisant le palladium adsorbé sur du charbon actif (10 % Pd/C). Selon le suivi de la réaction sur CCM, la déprotection était quantitative. Dans chaque cas, une purification par HPLC a été réalisée. Les rendements obtenus sont très faibles pour deux raisons. D'abord, étant donné que le substrat pour cette étape contenait une impureté (**1134**), la masse de produit de départ était donc généralement surestimée. C'est pourquoi un rendement sur deux étapes a été calculé. L'autre raison est que toute la masse de produit obtenu n'a pas été injectée sur le HPLC préparatif afin d'économiser les solvants. Il est évident que des rendements beaucoup plus élevés pourraient être obtenus en optimisant ces deux étapes de synthèse.

Dans tous les cas, les sucres ont été obtenus sous la forme d' α - et de β -pyranose. En plus, pour deux sucres, le D-galactose (**1091**) et le L-ribose (**1093**), il a été possible d'isoler la forme β -furanose, soit les composés **1116** et **1121**, respectivement (figure 143). La forme furanose a été confirmée par une corrélation HMBC entre le proton anomérique H-1 et le carbone C-4. Également, le déplacement chimique du proton H-4 (δ_H 4,60 pour **1116**), pour la forme furanose, était beaucoup plus faible que pour la forme pyranose (δ_H 5,88 pour **1114** ; 5,71 pour **1115**). La configuration β du galactofuranoside (**1116**) a été déterminée grâce à la constante de couplage ($J = 4,7$ Hz) [453]. La configuration β du ribofuranoside (**1121**) a été déterminée selon le même critère [454]. Ces deux composés sont connus pour prendre la forme furanose en proportion importante [455, 456].

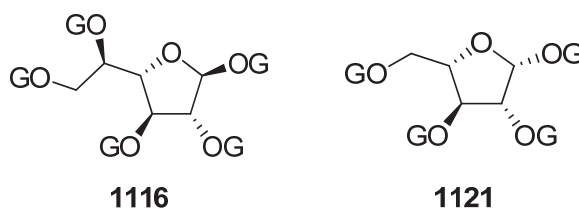


Figure 143 : Structure du 1,2,3,5,6-penta-O-galloyl- β -D-galactofuranoside (**1116**) et du 1,2,3,5-tétra-O-galloyl- β -L-ribofuranoside (**1121**)

Lors de la purification par HPLC des dérivés de tous les sucres sauf de ceux de l'arabinose (**1124-1127**), l'anomère β éluait en premier puis était suivi de l'anomère α (voir section 2.2.13-2.2.23, p. 420-430). Lorsque leur structure est examinée de manière attentive (voir les structures en 3D dans les

"Informations supplémentaires", p. 450-468), on remarque que les composés avec le proton anomérique en position axiale (anomères β , mais anomères α pour l'arabinose) éluent toujours avant ceux dont le proton anomérique est en position équatoriale (anomères α , mais anomères β pour l'arabinose).

3.2. Activité antivirale

L'activité antiherpétique (HSV-1) de tous les composés a été évaluée selon différents protocoles afin d'identifier un mécanisme d'action préliminaire. Dans tous les cas (tableau 67), les cellules rénales de singe (Vero) ont été utilisées comme cellule hôte et l'acyclovir a servi de témoin positif. Étant donné les résultats contradictoires obtenus au chapitre précédent (voir tableau 63, p. 353), une attention particulière a été portée à l'acyclovir. Ainsi, le témoin positif présente des valeurs d' EC_{50} du même ordre de grandeur que pour l'expérience réalisée au chapitre précédent. Il est tout de même utile de rappeler que ces valeurs sont largement inférieures à celles rapportées dans la littérature [457]. D'abord, il faut remarquer qu'aucune molécule ne présente d'activité en mode protection, absorption et réplication. Pour le mode direct, les trois composés les plus actifs sont l' α -D-Fucp-G₄ (**1132**), le β -L-Fucp-G₄ (**1131**) et le β -L-Ribp-G₄ (**1120**) avec des EC_{50} respectifs de 22 ± 1 , 43 ± 8 et 44 ± 6 μ M. Des comparaisons statistiques entre les différents groupes ci-dessous n'ont pas permis de trouver de descripteur utile pour prédire l'activité antivirale :

- Configuration naturelle ou artificielle (D ou L) ;
- Stéréochimie équatoriale ou axiale pour C1-C5 ;
- Substituant en C5 (H, CH₂OG, CH₃) ;
- Nombre d'unité galloyle (4 ou 5).

Les activités antivirales du gallate de propyle et de l'acide gallique ont aussi été évaluées afin de déterminer si l'activité des composés synthétiques pourrait être expliquée simplement par la présence des unités galloyles. Étant donné que leur activité en mode direct (149 ± 36 et > 200 μ M, respectivement) est plus faible que celle des molécules synthétiques, la structure de ces derniers est donc importante pour l'activité biologique. Finalement, il est important de mentionner une toxicité avec plusieurs des composés synthétiques testés selon le mode réplication.

Tableau 67 : Activité antivirale des sucres galloylés

Molécule	# Expérience ^a	EC ₅₀ (IC ₅₀) en µM ^b			
		Protection	Absorption	Replication	Direct
α-D-Glcp-G ₅ (1111)	1	> 200	> 200	> 200 (24 ± 3)	> 200
β-D-Glcp-G ₅ (970)	1	> 200	> 200	> 200 (44 ± 3)	> 200
α-D-Manp-G ₅ (1112)	1	> 200	> 200	> 200 (63 ± 6)	> 200
β-D-Manp-G ₅ (1113)	1	> 200	> 200	> 200 (65 ± 6)	200 ± 67
α-D-Galp-G ₅ (1114)	1	> 200	> 200	> 200 (60 ± 3)	> 200
β-D-Galp-G ₅ (1115)	1	> 200	> 200	> 200 (73 ± 8)	> 200
β-D-Galp-G ₅ (1116)	1	> 200	> 200	> 200 (59 ± 5)	140 ± 37
α-D-Xylp-G ₄ (1117)	1	> 200	> 200	> 200 (28 ± 2)	91 ± 8
β-D-Xylp-G ₄ (1118)	1	> 200	> 200	> 200 (70 ± 3)	191 ± 40
α-L-Ribp-G ₄ (1119)	1	> 200	> 200	> 200 (121 ± 16)	171 ± 12
β-L-Ribp-G ₄ (1120)	1	> 200	> 200	> 200 (148 ± 28)	44 ± 6
β-L-Ribf-G ₄ (1121)	1	> 200	> 200	> 200 (131 ± 14)	> 200
α-D-Ribp-G ₄ (1122)	2	> 100	> 100	> 100 (17 ± 2)	> 100
β-D-Ribp-G ₄ (1123)	2	> 100	> 100	> 100 (16 ± 4)	> 100
α-L-Arap-G ₄ (1124)	2	> 150	> 150 (113 ± 9)	> 150 (< 9,4)	> 150 (112 ± 3)
β-L-Arap-G ₄ (1125)	2	> 150	> 150	> 150 (12 ± 2)	> 150
α-D-Arap-G ₄ (1126)	2	> 200	> 200	> 200 (32 ± 4)	> 200
β-D-Arap-G ₄ (1127)	1	> 200	> 200	> 200 (67 ± 8)	65 ± 15
α-L-Rhap-G ₄ (1128)	3	> 200	> 200	> 200 (50 ± 4)	> 200
β-L-Rhap-G ₄ (1129)	1	> 67	> 67	> 67	59 ± 14
α-L-Fucp-G ₄ (1130)	1	> 50	> 50	> 50	> 50
β-L-Fucp-G ₄ (1131)	1	> 200	> 200	> 200 (141 ± 19)	43 ± 8
α-D-Fucp-G ₄ (1132)	1	> 50	> 50	> 50	22 ± 1
β-D-Fucp-G ₄ (1133)	2	> 200	> 200	> 200 (< 12,5)	> 200
gallate de propyle	1	> 200	> 200	> 200 (89 ± 22)	149 ± 36
acide gallique	2	> 200	> 200	> 200 (31 ± 3)	> 200
Acyclovir ^c	1	> 0,08	> 0,08	0,010 ± 0,001	> 0,08
Acyclovir ^c	2	> 2,8	1,4 ± 0,7	0,024 ± 0,005	0,17 ± 0,03

^a Les composés ont été testés au cours de trois expériences distinctes ; ^b La toxicité des composés (IC₅₀) est donnée lorsqu'applicable ; ^c Contrôle positif

3.3. Activité antioxydante et anti-inflammatoire

L'activité antioxydante de tous les composés a été évaluée à l'aide du test standardisé ORAC. Les résultats sont donnés au tableau 68 et représentés sous forme de graphique à la figure 144.

Tableau 68 : Activité antioxydante et anti-inflammatoire des sucres galloylés

Molécule	# Exp.	ORAC (Trolox equiv)	Inhibition du NO (IC ₅₀ , µM) ^a
α-D-Glcp-G ₅ (1111)	1	0,8 ± 0,2	> 160
β-D-Glcp-G ₅ (970)	1	1,1 ± 0,2	> 160
α-D-Manp-G ₅ (1112)	1	1,4 ± 0,3	> 160
β-D-Manp-G ₅ (1113)	1	1,2 ± 0,2	> 160
α-D-Galp-G ₅ (1114)	1	1,4 ± 0,2	> 160
β-D-Galp-G ₅ (1115)	1	1,5 ± 0,2	> 160
β-D-Galf-G ₅ (1116)	1	1,9 ± 0,3	> 160
α-D-Xylp-G ₄ (1117)	1	1,6 ± 0,1	157 ± 88
β-D-Xylp-G ₄ (1118)	1	1,1 ± 0,2	> 160
α-L-Ribp-G ₄ (1119)	1	1,6 ± 0,2	> 160
β-L-Ribp-G ₄ (1120)	1	1,3 ± 0,2	> 160
β-L-Ribf-G ₄ (1121)	1	0,62 ± 0,05	> 160
α-D-Ribp-G ₄ (1122)	2	0,7 ± 0,2	> 80
β-D-Ribp-G ₄ (1123)	2	1,6 ± 0,3	> 80
α-L-Arap-G ₄ (1124)	2	1,5 ± 0,2	> 120
β-L-Arap-G ₄ (1125)	2	0,3 ± 0,2	> 80
α-D-Arap-G ₄ (1126)		1,1 ± 0,1	> 160
β-D-Arap-G ₄ (1127)	1	0,5 ± 0,2	> 160
α-L-Rhap-G ₄ (1128)		1,1 ± 0,2	> 160
β-L-Rhap-G ₄ (1129)	1	2,0 ± 0,1	> 160
α-L-Fucp-G ₄ (1130)	1	0,72 ± 0,07	> 160
β-L-Fucp-G ₄ (1131)	1	1,7 ± 0,2	> 160
α-D-Fucp-G ₄ (1132)	1	1,1 ± 0,1	> 160
β-D-Fucp-G ₄ (1133)	2	0,8 ± 0,2	> 160
gallate de propyle	1	1,50 ± 0,06	50 ± 17
acide gallique	2	1,7 ± 0,2	> 160
quercétine ^b	1	7,3 ± 0,3	-
L-NAME ^b	1	-	237 ± 7

^a Concentration inhibant à 50 % la formation de NO ; ^b Contrôles positifs.

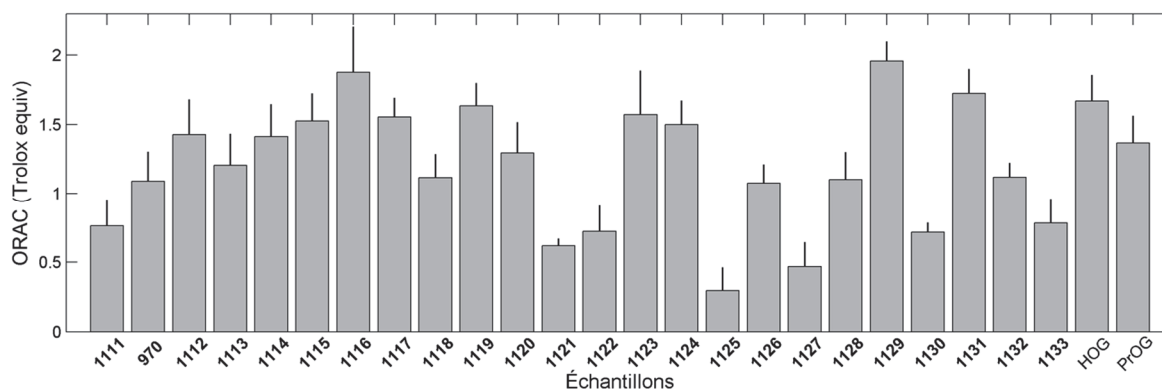


Figure 144 : Activité antioxydante (ORAC) des composés synthétiques

L'activité antioxydante des composés synthétiques est comprise entre 0,3-2,0 Trolox equiv ($\mu\text{mol Trolox } \mu\text{mol}^{-1}$), ce qui se compare aux valeurs de l'acide gallique (HOG) et du gallate de propyle. Des tests statistiques ont été réalisées en groupant les composés selon les mêmes descripteurs que ceux utilisés à la section précédente, mais aucune conclusion significative n'a pu en être tirée. De toute évidence, les composés synthétisés tirent leur activité antioxydante de par la présence d'unité galloyle dans leur structure.

L'activité anti-inflammatoire (tableau 68) a aussi été déterminée en traitant des macrophages murins (RAW 264.7) stimulés par de lipopolysaccharide (LPS). Le contrôle positif utilisé s'est avéré lui-même peu actif ($\text{IC}_{50} = 237 \pm 7 \mu\text{M}$). L' α -D-Xylp-G₄ (**1117**) est le seul composé synthétisé qui s'est avéré actif, mais à une concentration élevée ($\text{IC}_{50} = 157 \pm 88 \mu\text{M}$). Le gallate de propyle s'est avéré lui aussi actif avec une IC_{50} de $50 \pm 17 \mu\text{M}$.

3.4. Activité anticancéreuse

L'activité anticancéreuse des composés synthétiques a été évaluée contre des carcinomes pulmonaires humains (A549) et des adénocarcinomes colorectaux humains (DLD-1). En parallèle, la toxicité des composés a été déterminée en utilisant des fibroblastes normaux (WS1). Pour estimer le nombre de cellules, celles-ci ont été incubées avec la résazurine, un indicateur de l'activité métabolique, puis avec le Hoechst 33342, un indicateur de la quantité d'ADN. Les résultats obtenus pour les composés synthétiques ainsi que pour l'étoposide, le contrôle positif, sont présentés au tableau 69. Également, afin de faciliter la comparaison entre les échantillons, les données sont représentées sous forme d'histogramme à la figure 145.

Tableau 69 : Activités anticancéreuses des sucres galloylés

Molécules	Résazurine (IC ₅₀ , µM)			Hoechst (IC ₅₀ , µM)		
	A549	DLD-1	WS1	A549	DLD-1	WS1
α-D-Glcp-G ₅ (1111)	32 ± 1	22 ± 3	17 ± 2	34 ± 3	29,0 ± 0,5	97 ± 20
β-D-Glcp-G ₅ (970)	51,9 ± 0,8	42 ± 4	55 ± 13	46 ± 5	43 ± 6	125 ± 38
α-D-Manp-G ₅ (1112)	47 ± 5	33 ± 3	11 ± 3	55 ± 3	39 ± 3	116 ± 20
β-D-Manp-G ₅ (1113)	38 ± 2	31 ± 2	67 ± 8	60 ± 2	31 ± 1	92 ± 20
α-D-Galp-G ₅ (1114)	42 ± 4	37 ± 1	36 ± 5	60 ± 8	36 ± 1	59 ± 12
β-D-Galp-G ₅ (1115)	76 ± 3	55 ± 6	40 ± 11	72 ± 8	73 ± 11	123 ± 27
β-D-Galp-G ₅ (1116)	24,1 ± 0,8	20 ± 1	11,6 ± 0,6	39 ± 5	40 ± 4	61 ± 8
α-D-Xylp-G ₄ (1117)	8 ± 1	13 ± 1	13 ± 2	12 ± 2	16,6 ± 0,5	24 ± 3
β-D-Xylp-G ₄ (1118)	13,3 ± 0,9	22,0 ± 0,1	46 ± 5	15,2 ± 0,2	19,3 ± 0,9	72 ± 7
α-L-Ribp-G ₄ (1119)	124 ± 9	62 ± 15	> 200	134 ± 11	91 ± 10	> 200
β-L-Ribp-G ₄ (1120)	191 ± 18	130 ± 6	84 ± 32	162 ± 18	149 ± 20	140 ± 55
β-L-Ribf-G ₄ (1121)	> 200	118 ± 13	22 ± 7	168 ± 29	98 ± 18	55 ± 25
α-D-Ribp-G ₄ (1122)	14 ± 1	26 ± 3	88 ± 1	23 ± 3	28 ± 3	> 100
β-D-Ribp-G ₄ (1123)	16 ± 2	24,8 ± 0,8	80 ± 8	11 ± 2	21 ± 4	> 100
α-L-Arap-G ₄ (1124)	9,1 ± 0,6	12,2 ± 0,9	32 ± 4	14 ± 2	18 ± 3	78 ± 4
β-L-Arap-G ₄ (1125)	10,1 ± 0,8	15,5 ± 0,9	50 ± 13	8 ± 2	11 ± 2	> 100
α-D-Arap-G ₄ (1126)	29 ± 3	74 ± 6	152 ± 14	77 ± 14	54 ± 10	122 ± 13
β-D-Arap-G ₄ (1127)	81 ± 3	54 ± 7	192 ± 51	115 ± 25	59 ± 8	> 200
α-L-Rhap-G ₄ (1128)	> 200	192 ± 18	54 ± 3	106 ± 8	94 ± 10	77 ± 16
β-L-Rhap-G ₄ (1129)	> 67	> 67	> 67	28 ± 3	45 ± 2	> 67
α-L-Fucp-G ₄ (1130)	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
β-L-Fucp-G ₄ (1131)	> 200	162 ± 51	154 ± 122	150 ± 18	153 ± 35	> 200
α-D-Fucp-G ₄ (1132)	47 ± 5	43 ± 4	> 50	48 ± 5	> 50	> 50
β-D-Fucp-G ₄ (1133)	15 ± 1	32 ± 3	64 ± 16	24 ± 3	41 ± 5	> 200
gallate de propyle	170 ± 24	94 ± 9	45 ± 9	45 ± 7	48 ± 4	174 ± 111
acide gallique	151 ± 8	> 200	104 ± 8	74 ± 2	119 ± 9	87 ± 4
Etoposide ^a	1,04 ± 0,07	3,6 ± 0,3	48 ± 40	0,9 ± 0,1	2,2 ± 0,2	75 ± 239

^a Contrôle positif

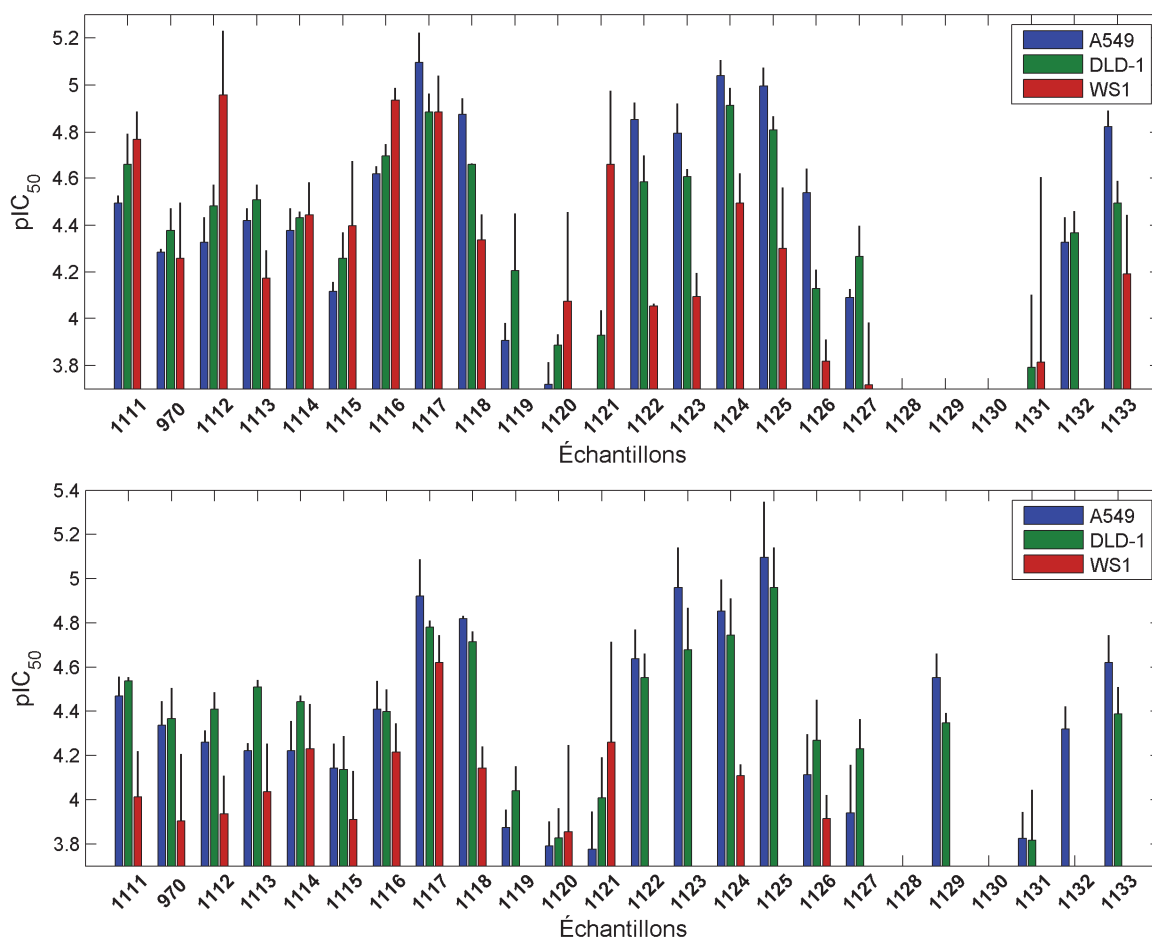


Figure 145 : Activité anticancéreuse (pIC₅₀) des composés synthétiques
En haut : compte cellulaire avec résazurine ; en bas : compte cellulaire avec Hoechst 33342.

Les composés les plus actifs sur les lignées cancéreuses A549 et DLD-1, selon le test à la résazurine, sont l' α -D-Xylp-G₄ (**1117**), l' α -L-Arap-G₄ (**1124**) et le β -L-Arap-G₄ (**1125**). Les valeurs d'IC₅₀ pour ces composés se trouve entre 8 et 16 μ M. Aussi, plusieurs composés présentent une sélectivité par rapport à la lignée WS1. Les plus sélectifs sont l' α -D-Ribp-G₄ (**1122**), le β -D-Ribp-G₄ (**1123**) et l' α -D-Arap-G₄ (**1126**), avec des indices de sélectivité entre 2.1 et 6.3. De manière générale, les dérivés sans CH₃ ou CH₂OG en C5 sont significativement ($p = 0.05$) plus sélectif que les autres.

Selon le compte cellulaire réalisé avec le Hoechst 33342, les composés les plus actifs sont l' α -D-Xylp-G₄ (**1117**), le β -D-Xylp-G₄ (**1118**), le β -D-Ribp-G₄ (**1123**), l' α -L-Arap-G₄ (**1124**) et le β -L-Arap-G₄ (**1125**) avec des valeurs d'IC₅₀ comprises entre 8 et 21 μ M. Plus intéressant, plusieurs composés ne présentent aucune cytotoxicité contre les cellules normales WS1. Par exemple, le β -L-Arap-G₄

(1125) s'est avéré actif sur toutes les lignées selon le test à la résazurine, mais seules les lignées cancéreuses A549 et DLD-1 ont été affectées selon le test de Hoechst. Cette observation suggère qu'un certain nombre de composé soient cytotoxiques contre les lignées cancéreuses et cytostatiques contre les WS1.

3.5. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des composés synthétiques a été évaluée contre deux souches bactériennes, *Escherichia coli* (Gram négatif) et *Staphylococcus aureus* (Gram positif), ainsi que contre la levure *Candida albicans*. Pour les souches bactériennes, deux lectures d'absorbances ont été réalisées, soit 6 h et 24 h après l'ajout des composés, et le contrôle positif utilisé était la gentamicine. Pour la levure *C. albicans*, le temps de lecture était de 24 h et le contrôle positif était l'amphotéricine B. Les résultats obtenus sont présentés au tableau 70.

Tableau 70 : Activité antimicrobienne des sucres galloylés (CMI₈₀, µM)^a

Molécules	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>C. albicans</i>	
	6 h	24 h	6 h	24 h	6 h	24 h
α -D-Glcp-G ₅ (1111)	> 200	> 200	159 ± 37	194 ± 45	> 200	> 200
β -D-Glcp-G ₅ (970)	> 200	> 200	177 ± 30	76 ± 13	> 200	> 200
α -D-Manp-G ₅ (1112)	> 200	> 200	100 ± 16	> 200	> 200	> 200
β -D-Manp-G ₅ (1113)	> 200	> 200	116 ± 37	> 200	> 200	> 200
α -D-Galp-G ₅ (1114)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
β -D-Galp-G ₅ (1115)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
β -D-Galf-G ₅ (1116)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
α -D-Xylp-G ₄ (1117)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
β -D-Xylp-G ₄ (1118)	> 200	> 200	146 ± 20	> 200	> 200	> 200
α -L-Ribp-G ₄ (1119)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
β -L-Ribp-G ₄ (1120)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
β -L-Ribf-G ₄ (1121)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
α -D-Ribp-G ₄ (1122)	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
β -D-Ribp-G ₄ (1123)	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
α -L-Arap-G ₄ (1124)	> 150	> 150	> 150	> 150	> 150	> 150
β -L-Arap-G ₄ (1125)	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
α -D-Arap-G ₄ (1126)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
β -D-Arap-G ₄ (1127)	> 200	> 200	147 ± 24	> 200	> 200	> 200
α -L-Rhap-G ₄ (1128)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
β -L-Rhap-G ₄ (1129)	> 67	> 67	> 67	> 67	> 67	> 67
α -L-Fucp-G ₄ (1130)	> 50	> 50	10 ± 1	> 50	> 50	> 50
β -L-Fucp-G ₄ (1131)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
α -D-Fucp-G ₄ (1132)	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
β -D-Fucp-G ₄ (1133)	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200	> 200
gallate de propyle	8 ± 1	101 ± 7	> 200	> 200	> 200	> 200
Gentamicine ^b	0,023 ± 0,001	1,0 ± 0,1	< 0,01	1,1 ± 0,2	> 1,3	> 1,3
Amphotéricine B ^b	> 1440	> 1440	> 1440	> 1440	> 1440	446 ± 14

^a Concentration inhibant à 80 % la croissance des microbes ; ^b Contrôle positif

D'après les lectures effectuées 6 h après l'ajout des composés, seul le gallate de propyle s'est avéré actif avec une CMI₈₀ de 8 ± 1 μ M contre les *E. coli*. Cependant, 18 h plus tard, les bactéries avaient recommencé à proliférer. En ce qui concerne l'activité à 6 h contre les *S. aureus*, l' α -L-Fucp-G₄ (**1130**) s'est avéré le plus actif avec une CMI₈₀ de 10 ± 1 μ M. D'autres composés, soit les α/β -D-Glcp-G₅ (**1111** et **970**), les α/β -D-Manp-G₅ (**1112** et **1113**) et le β -D-Xylp-G₄ (**1118**), ont montré des activités faibles (CMI₈₀ = 100-177 μ M). À 24 h, seul les α/β -D-Glcp-G₅ (**1111** et **970**) étaient encore actifs avec des CMI₈₀ de 194 ± 45 et 76 ± 13 μ M, respectivement. En ce qui concerne l'activité antifongique, aucun composé n'a été en mesure d'inhiber la prolifération du *C. albicans*.

4. CONCLUSION

La synthèse de 24 composés constitués de sucres (D-glucose, D-mannose, D-galactose, D-xylose, L- et D-ribose, L- et D-arabinose, L-rhamnose, L- et D-fucose) sous la forme pyranose ou furanose et comprenant quatre ou cinq unités galloyles a été réalisée. Pour y arriver, la procédure mise au point par Ren *et al.* a été suivie avec quelques modifications [446]. Les rendements sont faibles (1 à 31 %) mais pourraient facilement être améliorée. La première piste d'amélioration serait de trouver des conditions réactionnelles qui réduiraient la formation du produit de réarrangement (**1134**). Par exemple, l'ajout de DMAP • HCl pourrait réduire la formation de ce composé [458]. La préparation du chlorure de l'acide tribenzylgallique pourrait aussi être une voie alternative [459].

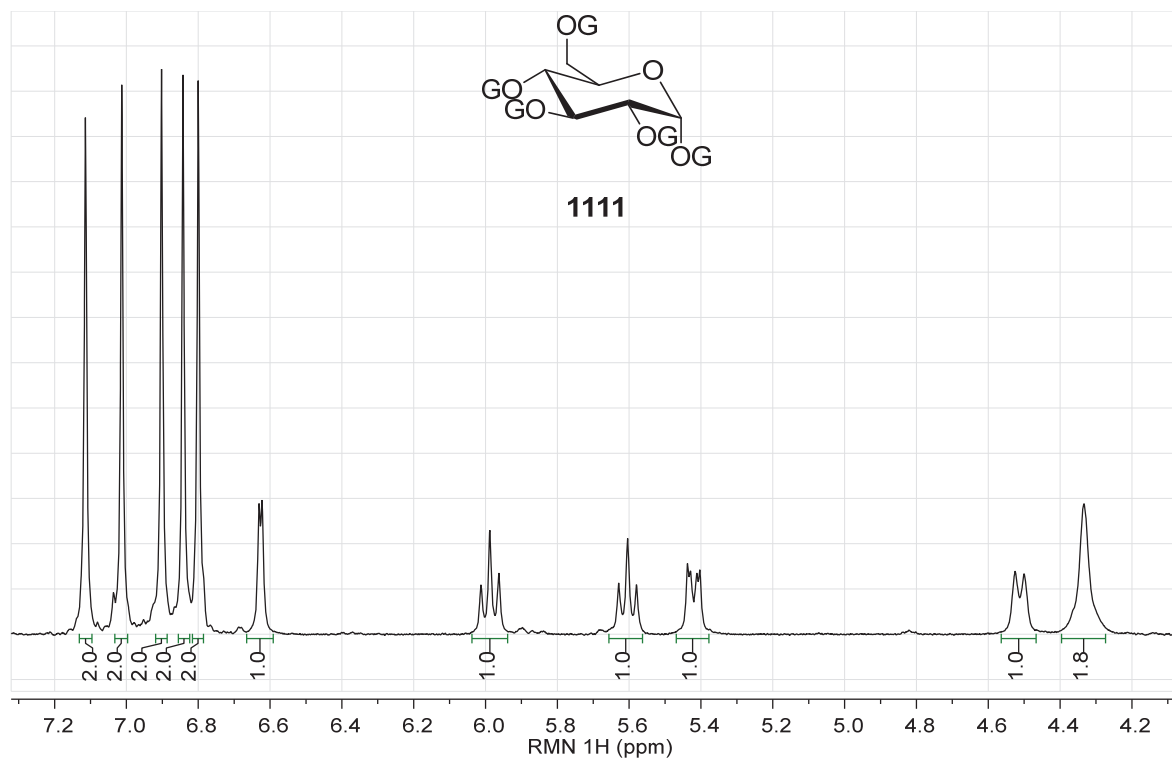
Les activités antivirales, antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et antimicrobiennes de tous les composés synthétisés ont été évaluées. En ce qui concerne l'activité antivirale, trois composés se sont avérés plus actifs que les autres, soit l' α -D-Fucp-G₄ (**1132**), le β -L-Fucp-G₄ (**1131**) et le β -L-Ribp-G₄ (**1120**), avec des EC₅₀ en mode direct de 22 ± 1 , 43 ± 8 et 44 ± 6 μ M, respectivement. Si ces composés sont sélectionnés pour un développement plus poussé, la toxicité devra être déterminée de manière précise. En effet, dans le mode réplique, ces composés se sont avérés légèrement toxique avec des IC₅₀ de 141 ± 19 et 148 ± 28 μ M pour les composés **1131** et **1120**, respectivement. L'IC₅₀ de l' α -D-Fucp-G₄ (**1132**) n'a pu être déterminée parce que la concentration maximale testée était seulement de 50 μ M, mais à cette concentration, le taux de survie n'était plus que de 58 ± 3 %. Sur les cellules WS1, seulement le β -L-Ribp-G₄ (**1120**) s'est avéré toxique avec une IC₅₀ de 140 ± 55 μ M.

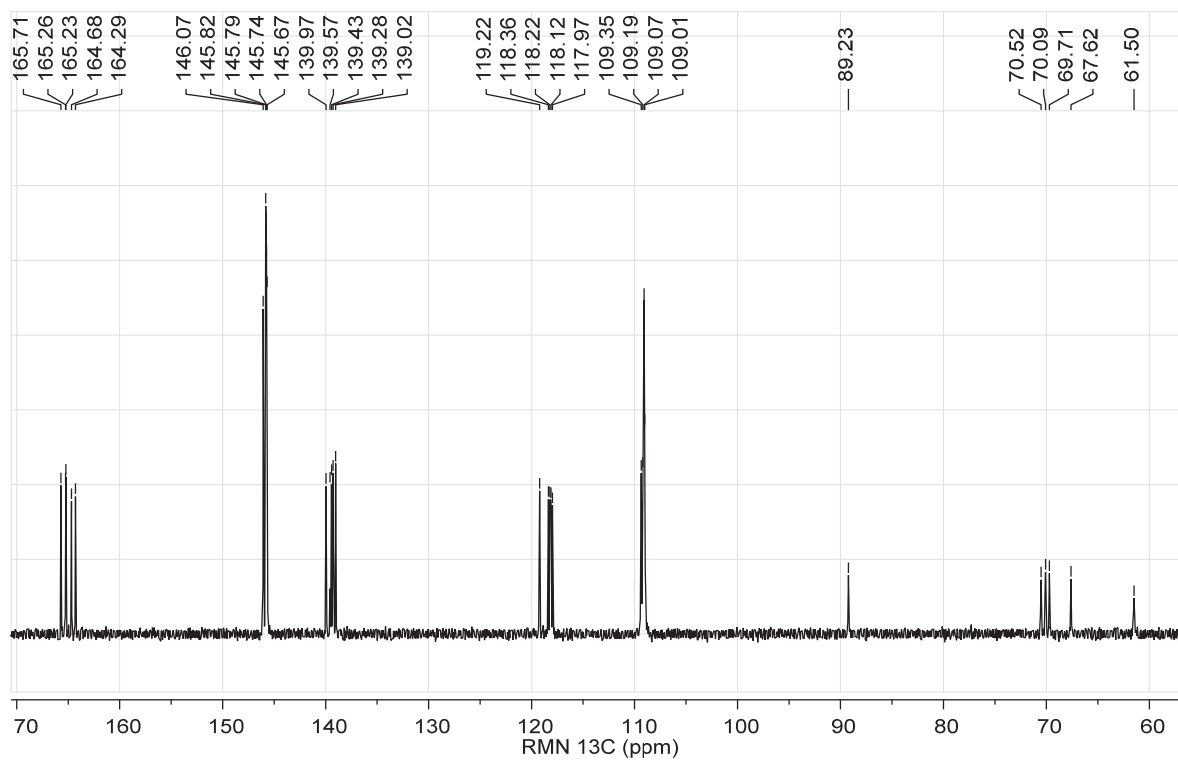
Les activités antioxydante et anti-inflammatoire n'ont pas permis la découverte de composé intéressant. Les composés synthétiques ont montré des activités antioxydantes du même ordre de grandeur que l'acide gallique ou du gallate de propyle, soit entre 0,3 et 2,0 μ mol équivalent Trolox (μ mol Trolox μ mol⁻¹). Étant donné que le test ORAC est un test chimique, qui ne contient ni enzyme ou ni cellule, ce constat n'est guère surprenant.

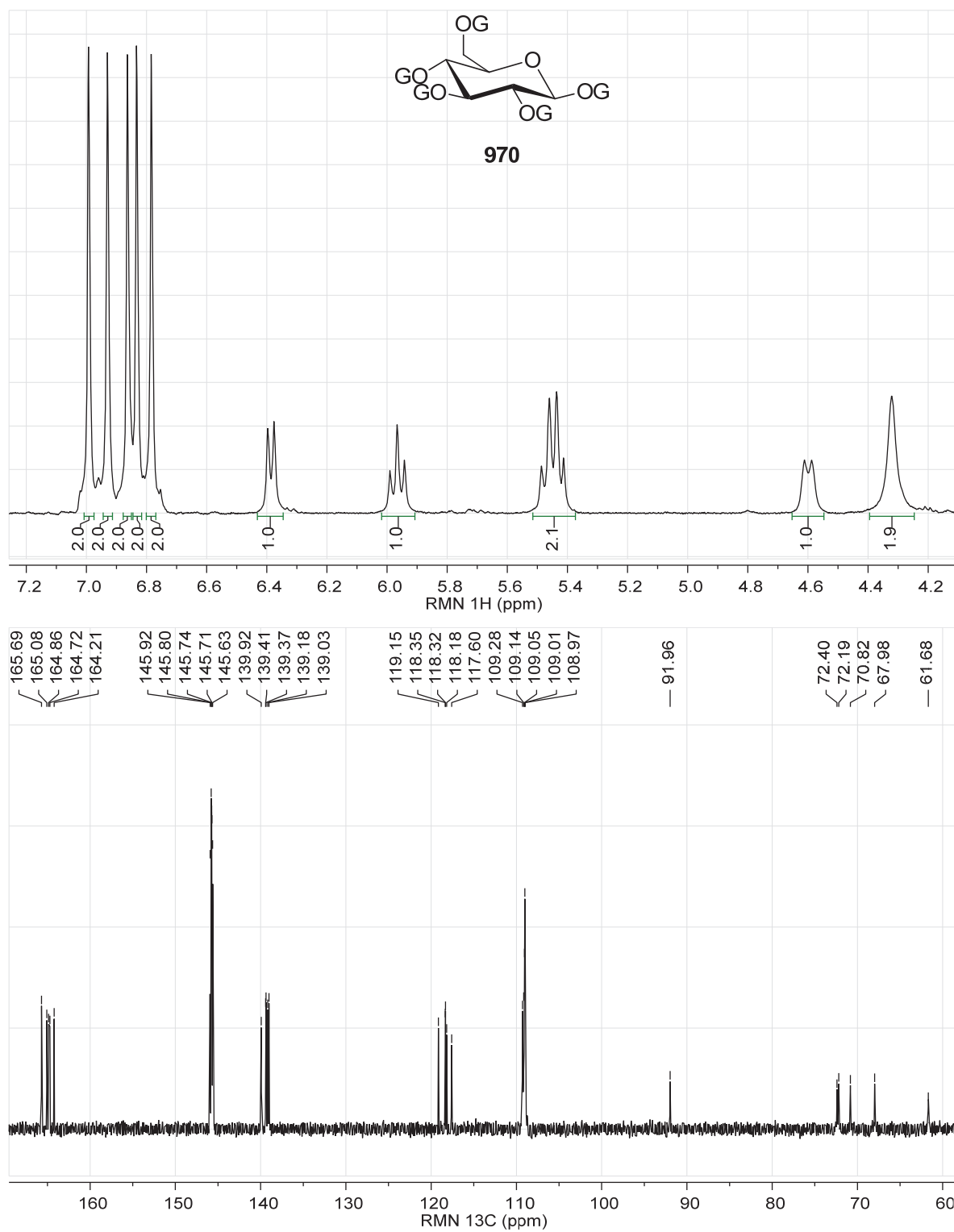
L'activité antimicrobienne ne s'est pas démarquée davantage. En effet, un seul composé s'est avéré actif, soit l' α -L-Fucp-G₄ (**1130**) avec une CMI₈₀ de 10 ± 1 μ M contre les *S. aureus*. Cette valeur a été calculée suite à une lecture 6h après la mise en contact du produit avec les bactéries. Malheureusement, à 24h, les *S. aureus* avaient repris leur croissance. Lorsque les courbes doses-

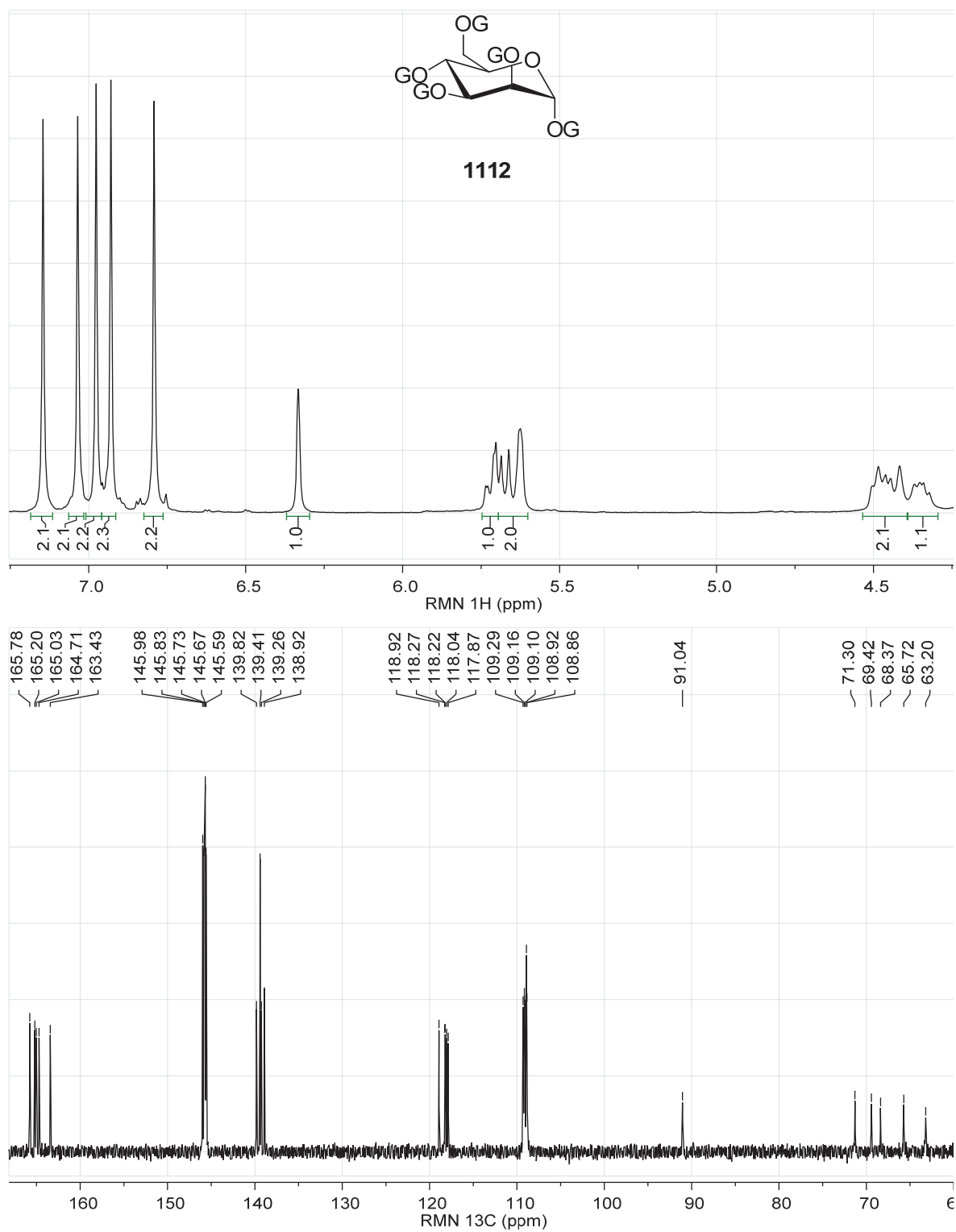
réponses sont examinées attentivement (non montrées), on remarque que la plupart des composés ont affecté la croissance, mais dans la plupart des cas, un plateau était atteint ce qui explique pourquoi peu d'entre eux affichent une CMI₈₀.

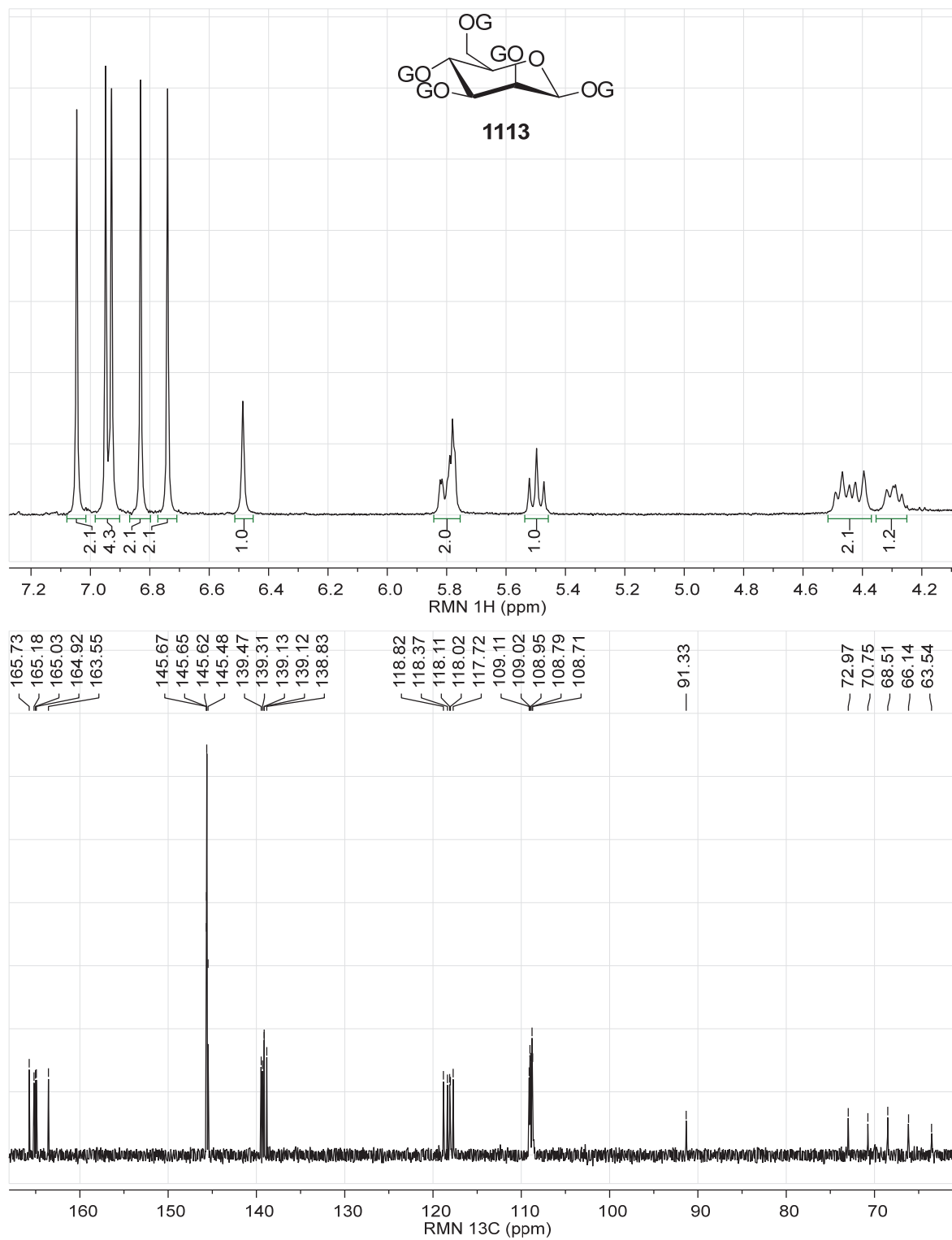
L'activité biologique qui présente le plus d'intérêt est la cytotoxicité. Plusieurs composés ont montré une activité significative et sélective contre les carcinomes pulmonaires (A549) et les adénocarcinomes colorectaux (DLD-1). Celui s'étant le plus démarqué est l' α -L-Arap-G₄ (**1125**). En effet, une cytotoxicité a pu être démontrée tant avec le compte à la résazurine (10 à 16 μ M contre A549 et DLD-1, 50 μ M contre WS1) qu'avec le compte au Hoechst 33343 (8 à 11 μ M contre A549 et DLD-1, > 100 μ M contre WS1). Ce niveau d'activité est comparable, sinon meilleur, à celui des dérivés du lupane préparés au laboratoire LASEVE, surtout en termes de sélectivité [24-26].

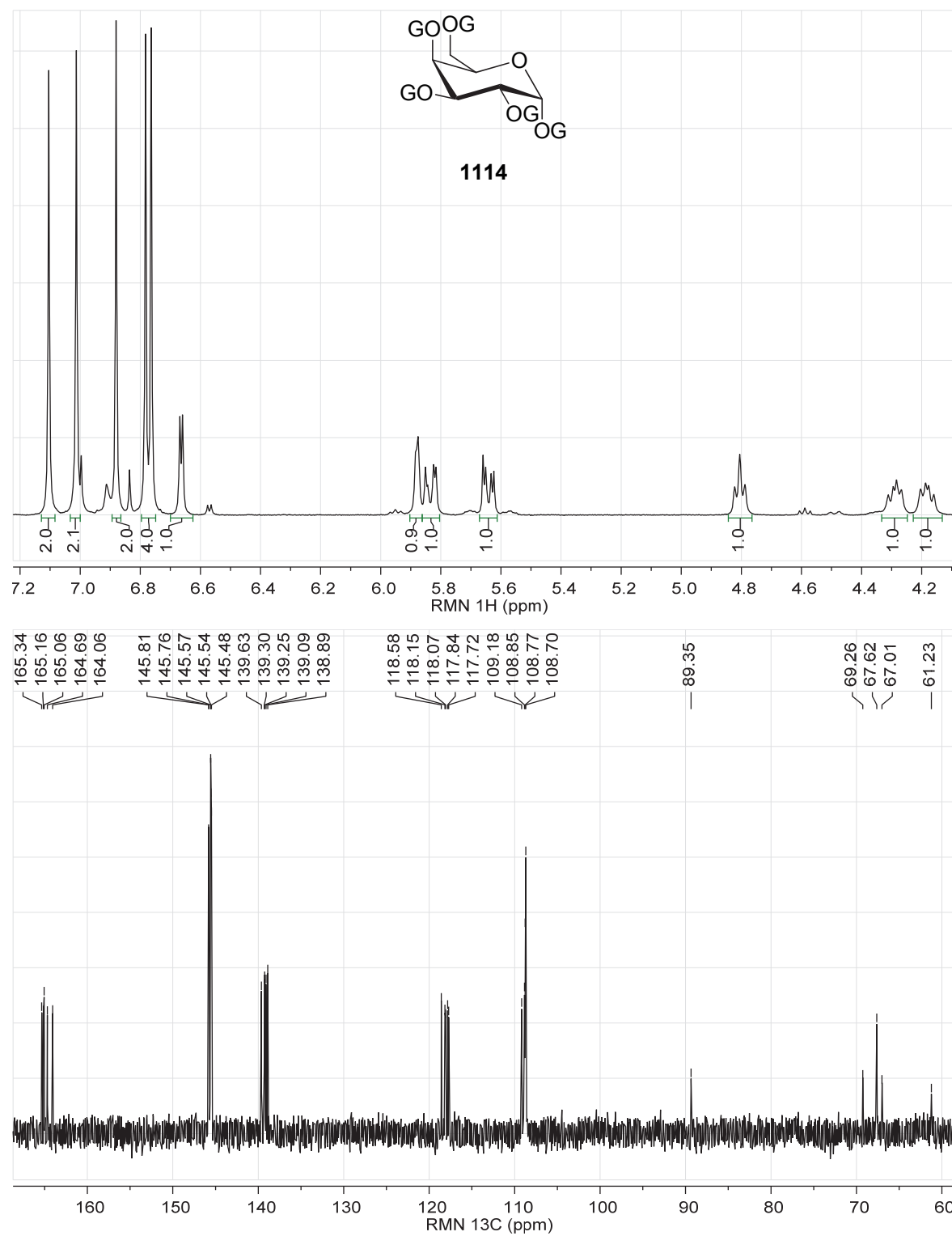
ANNEXE J : INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES**Spectres du 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- α -D-glucopyranoside (1111)**

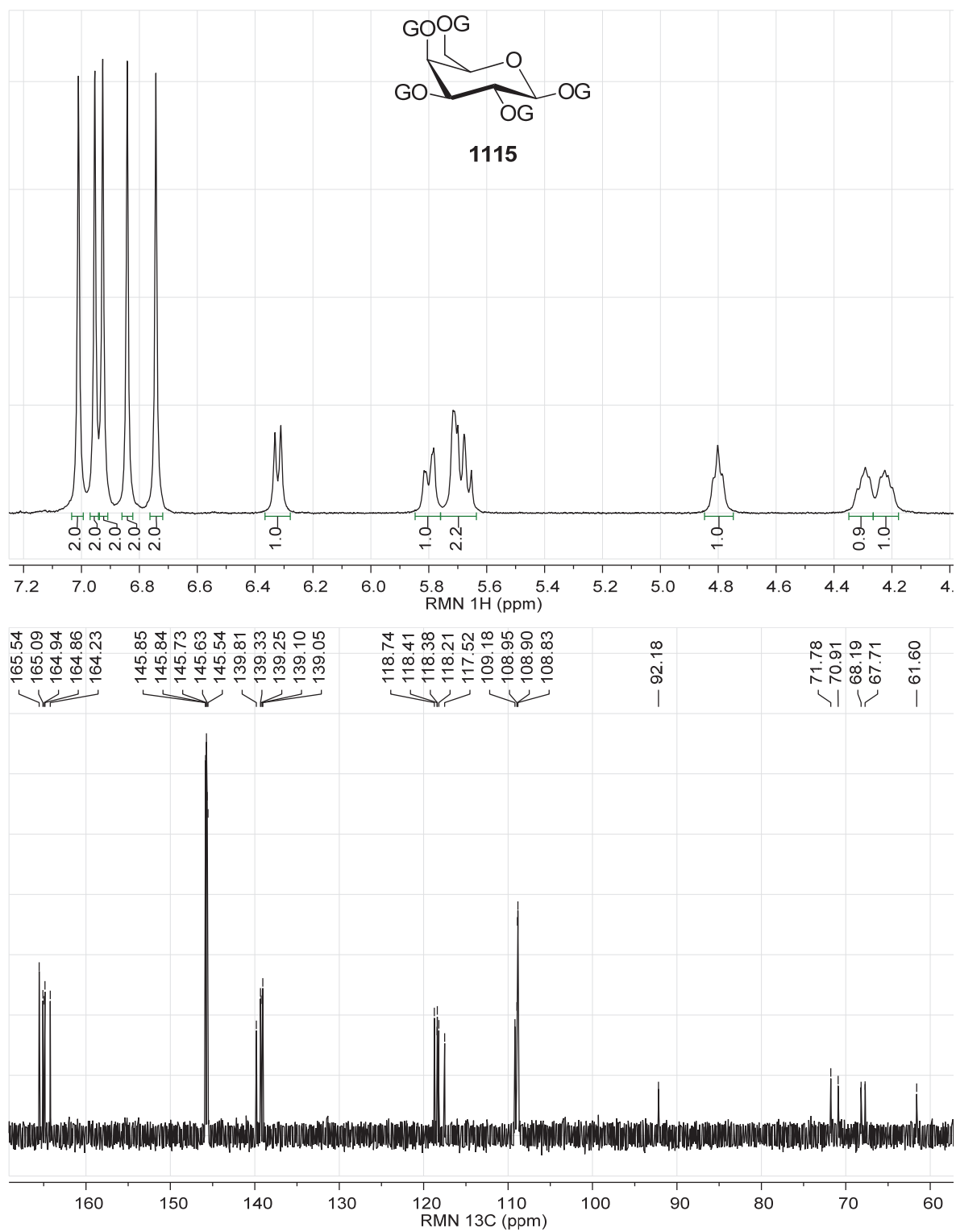


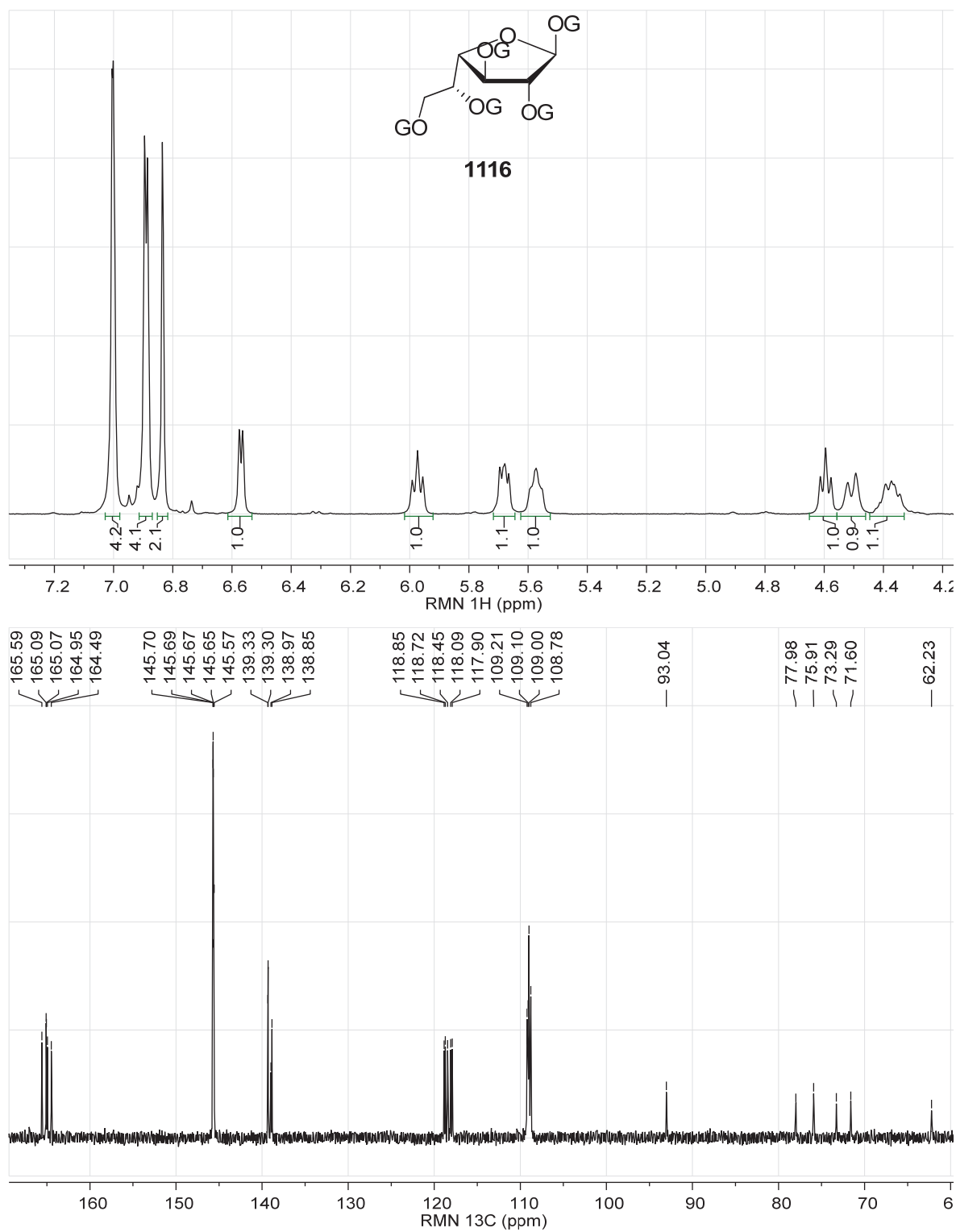
Spectres du 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (970)

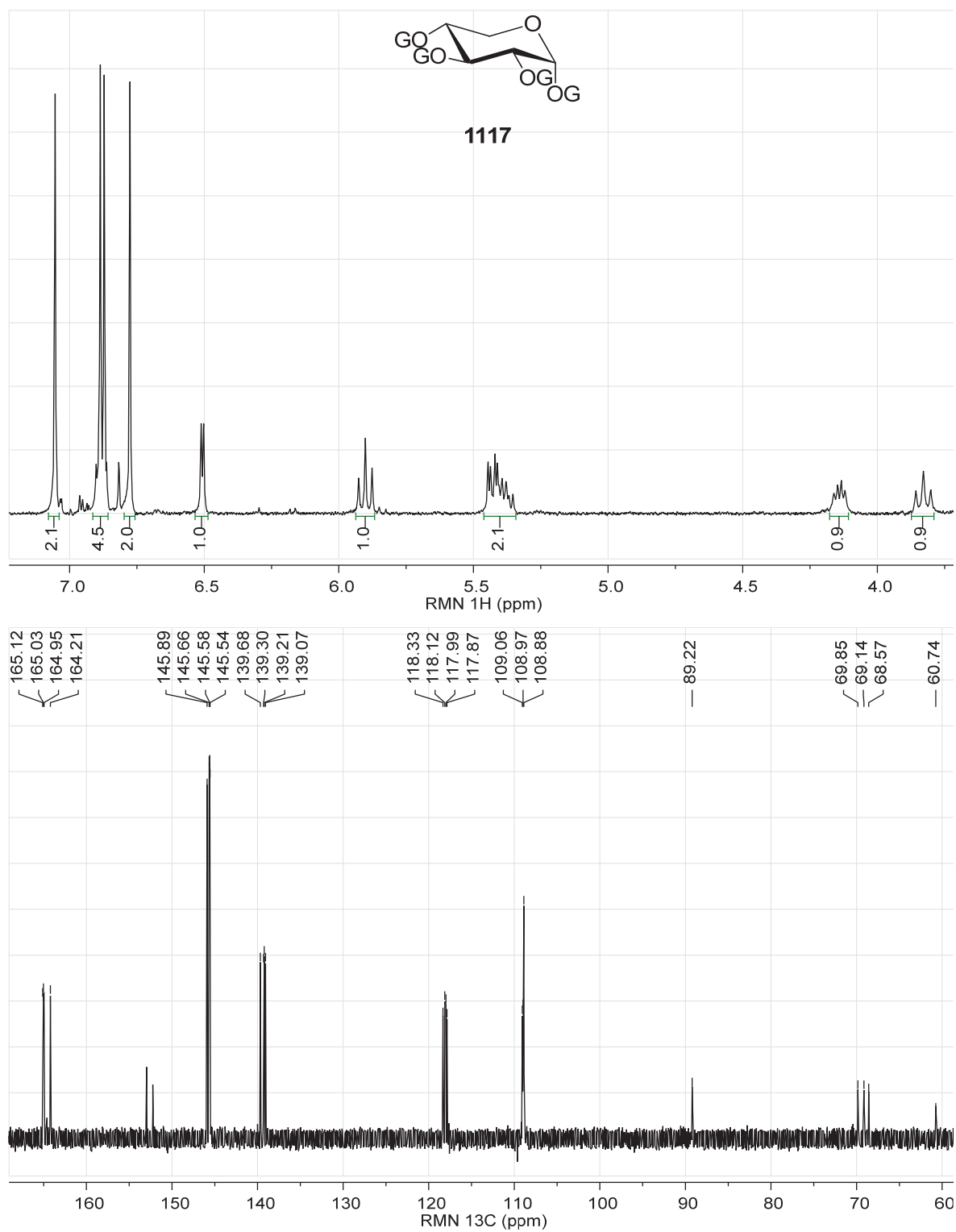
Spectres du 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- α -D-mannopyranoside (**1112**)

Spectres du 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-mannopyranoside (**1113**)

Spectres du 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- α -D-galactopyranoside (**1114**)

Spectres du 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-galactopyranoside (**1115**)

Spectres du 1,2,3,5,6-penta-*O*-galloyl- β -D-galactofuranoside (**1116**)

Spectres du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -D-xylopyranoside (**1117**)

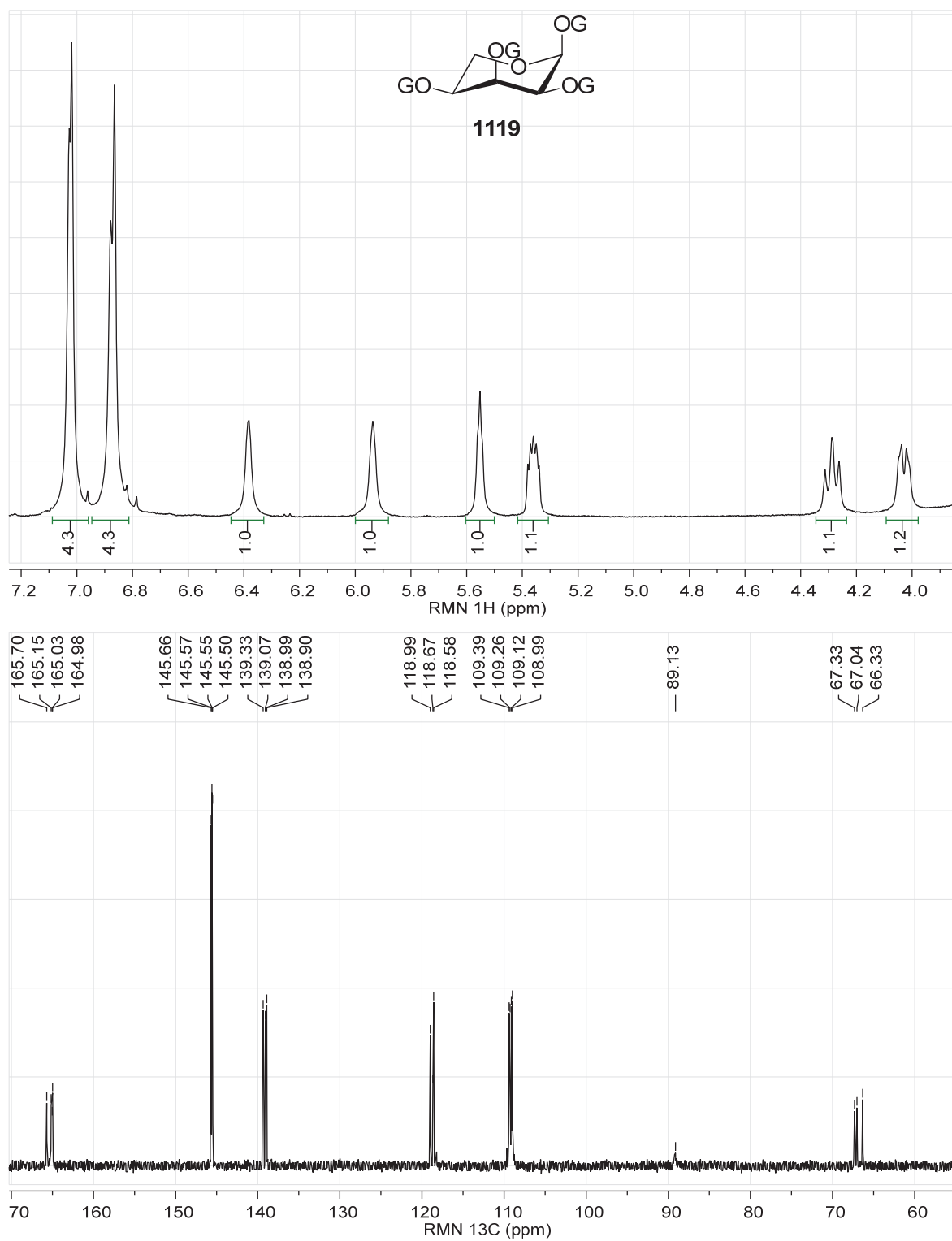
1118

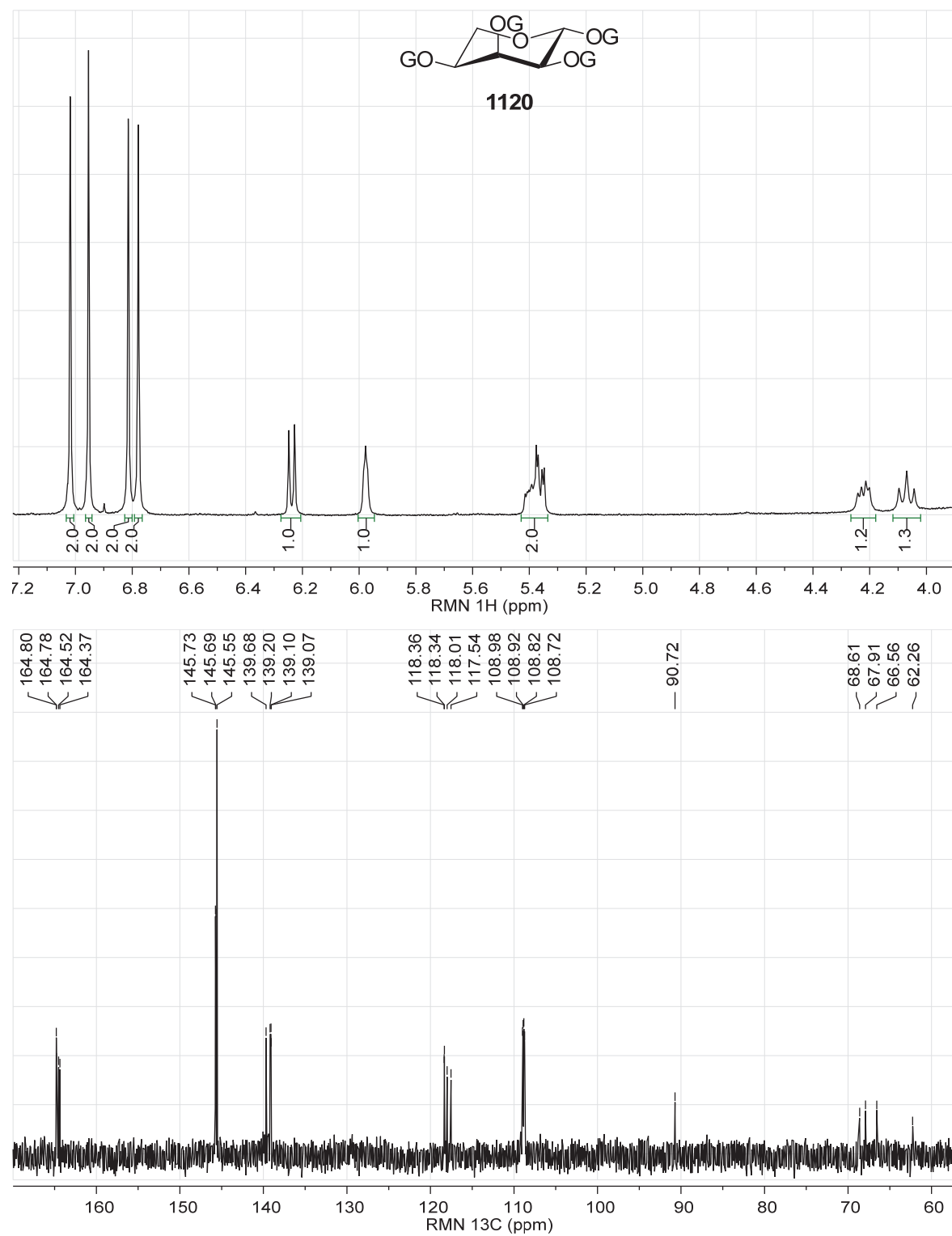
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)

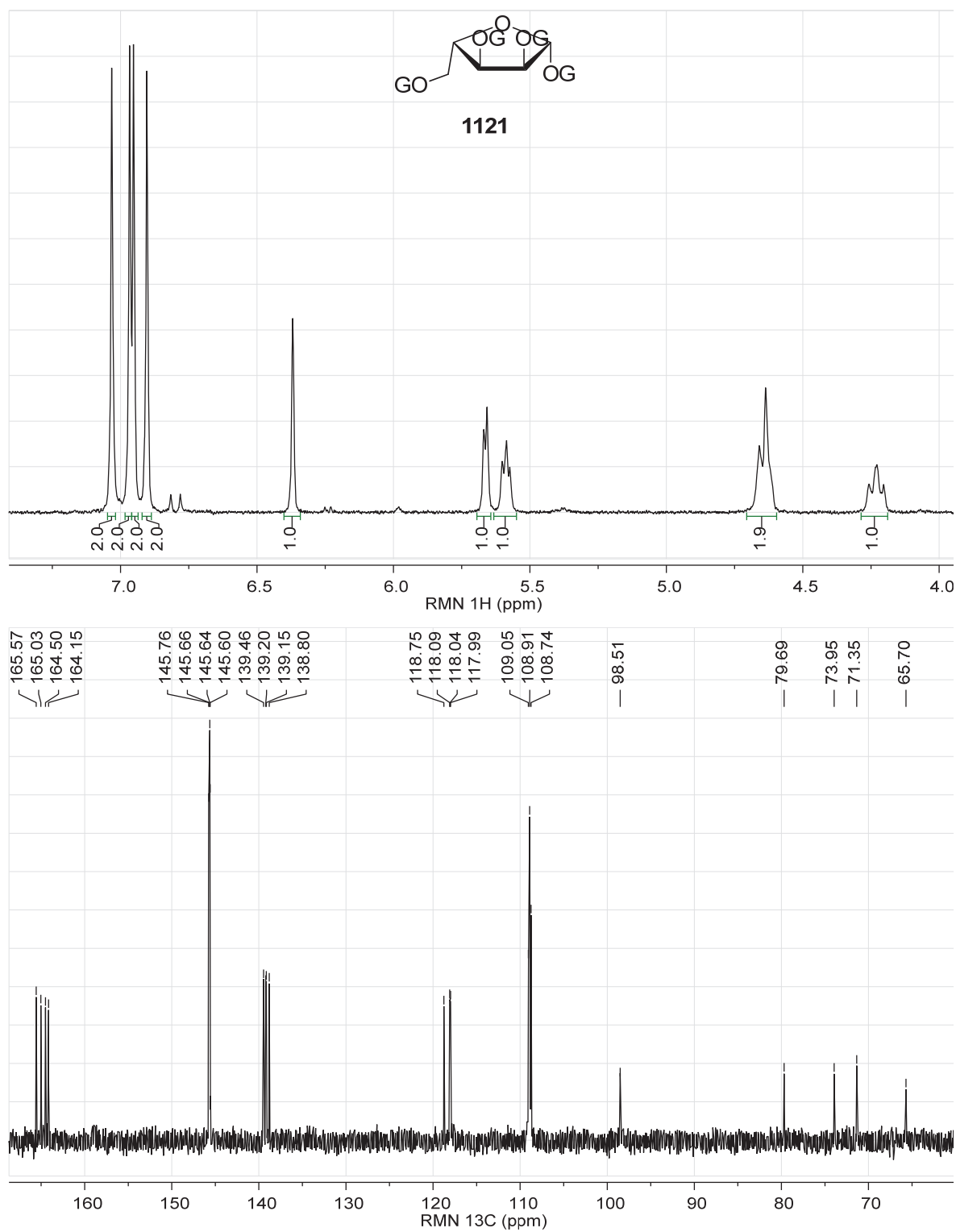
Chemical Shift (ppm)	Integration
7.00	2.0
6.90	2.0
6.80	4.0
6.20	1.0
5.90	1.0
5.40	1.0
5.30	1.0
4.20	1.1
3.90	0.9

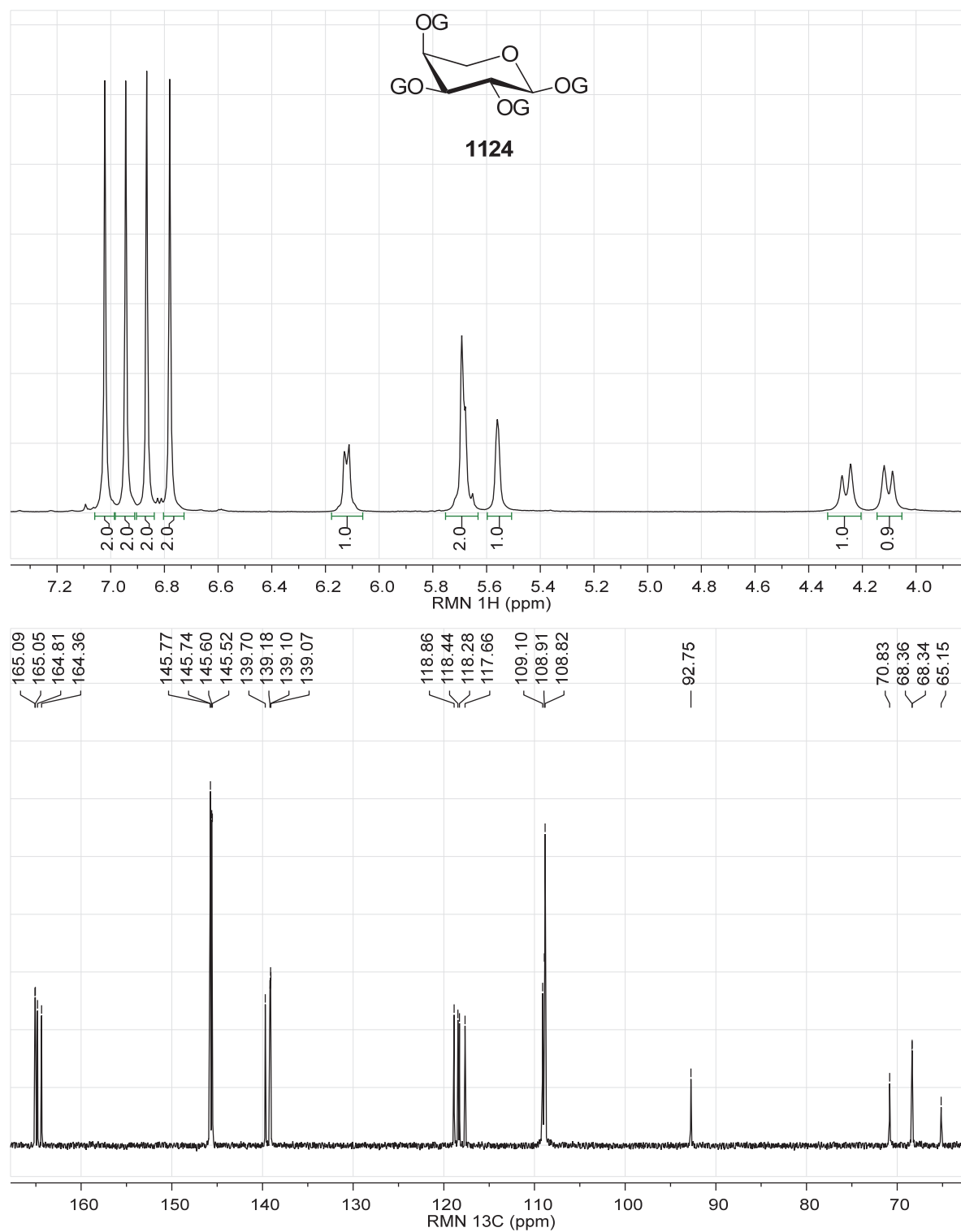
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃)

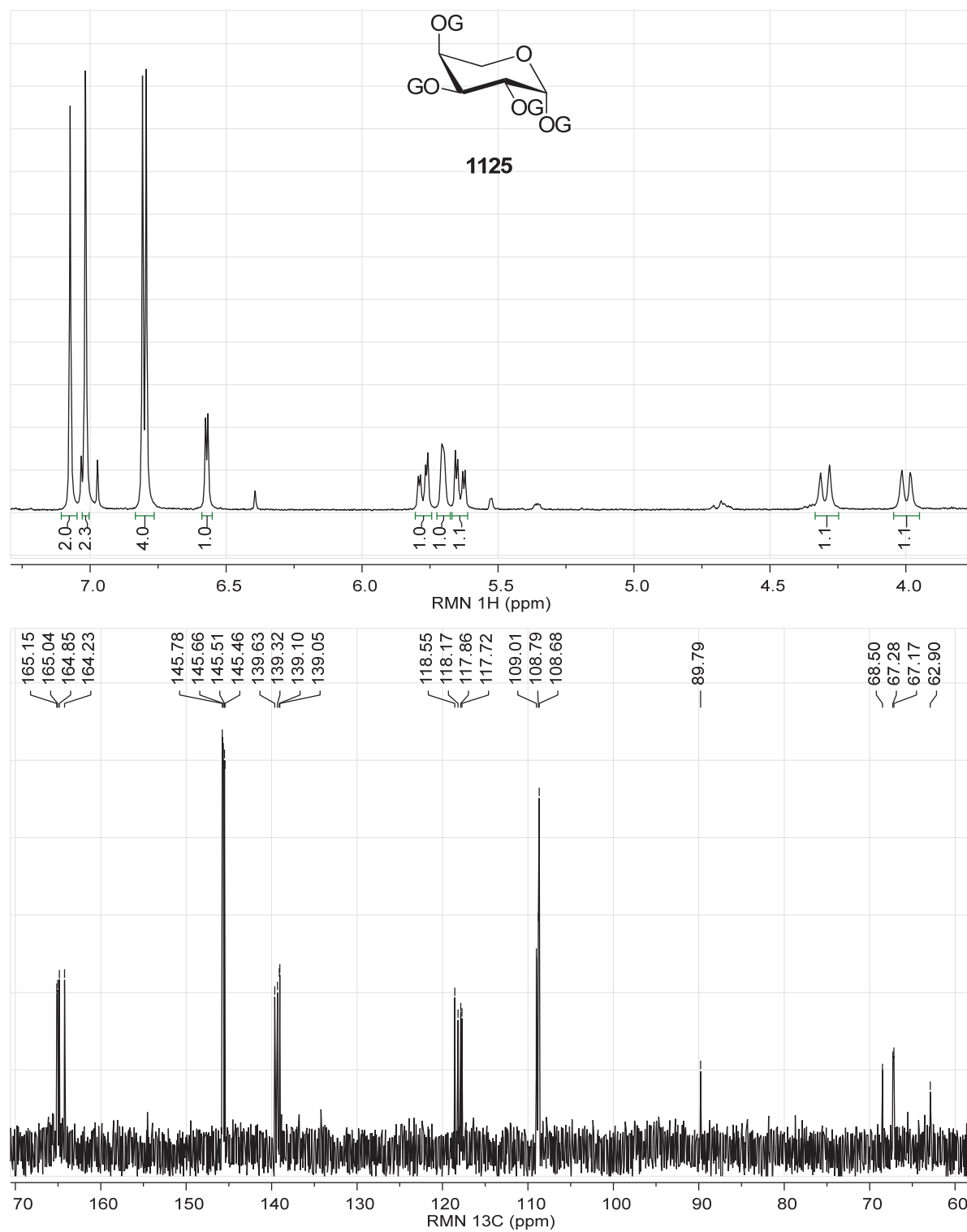
Chemical Shift (ppm)
164.96
164.87
164.54
164.16
145.68
145.57
145.50
145.46
139.60
139.11
138.94
118.26
118.19
118.04
117.55
109.01
108.87
108.80
108.79
92.53
71.63
70.39
69.17
62.89

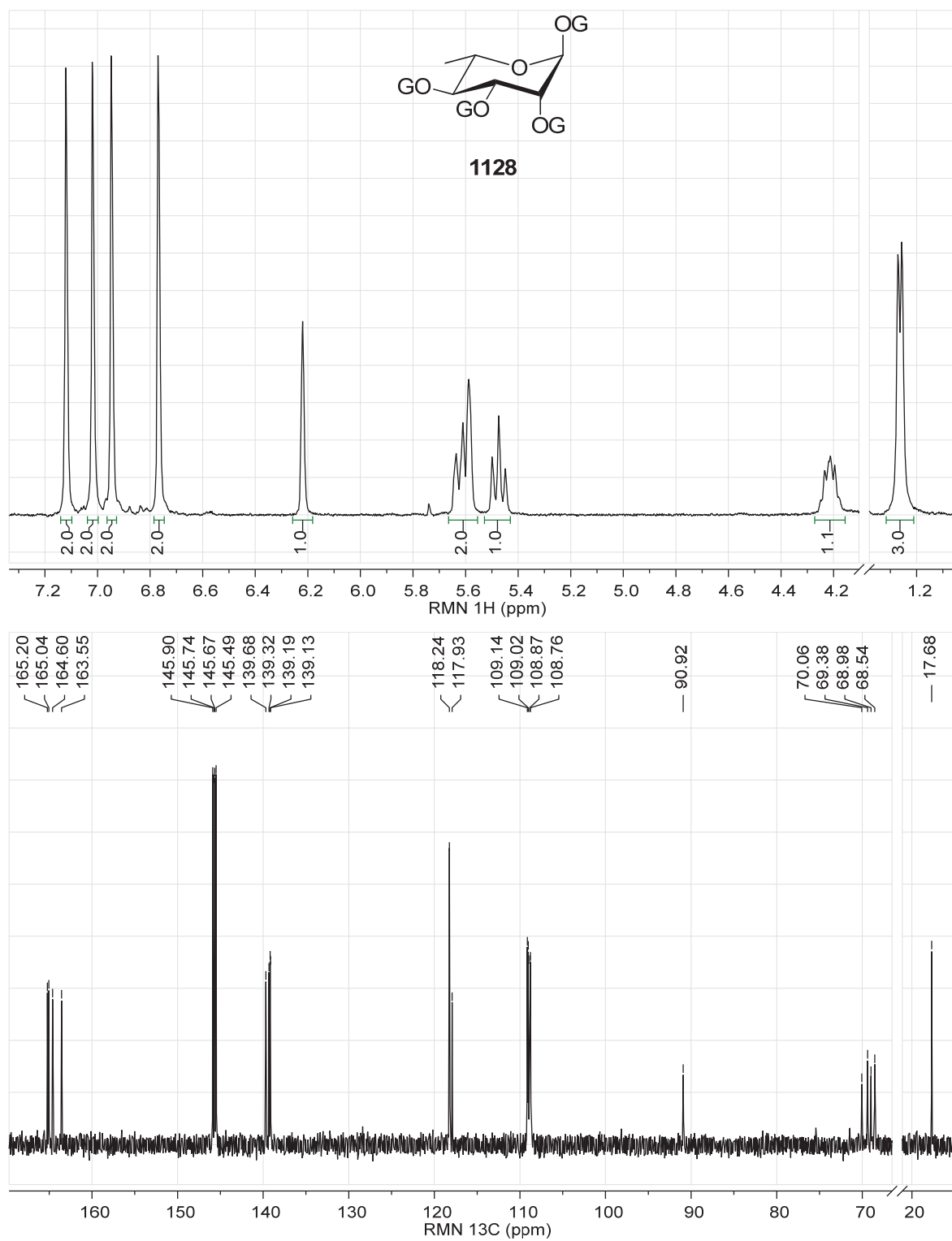
Spectres du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -L-ribofuranoside (**1119**)

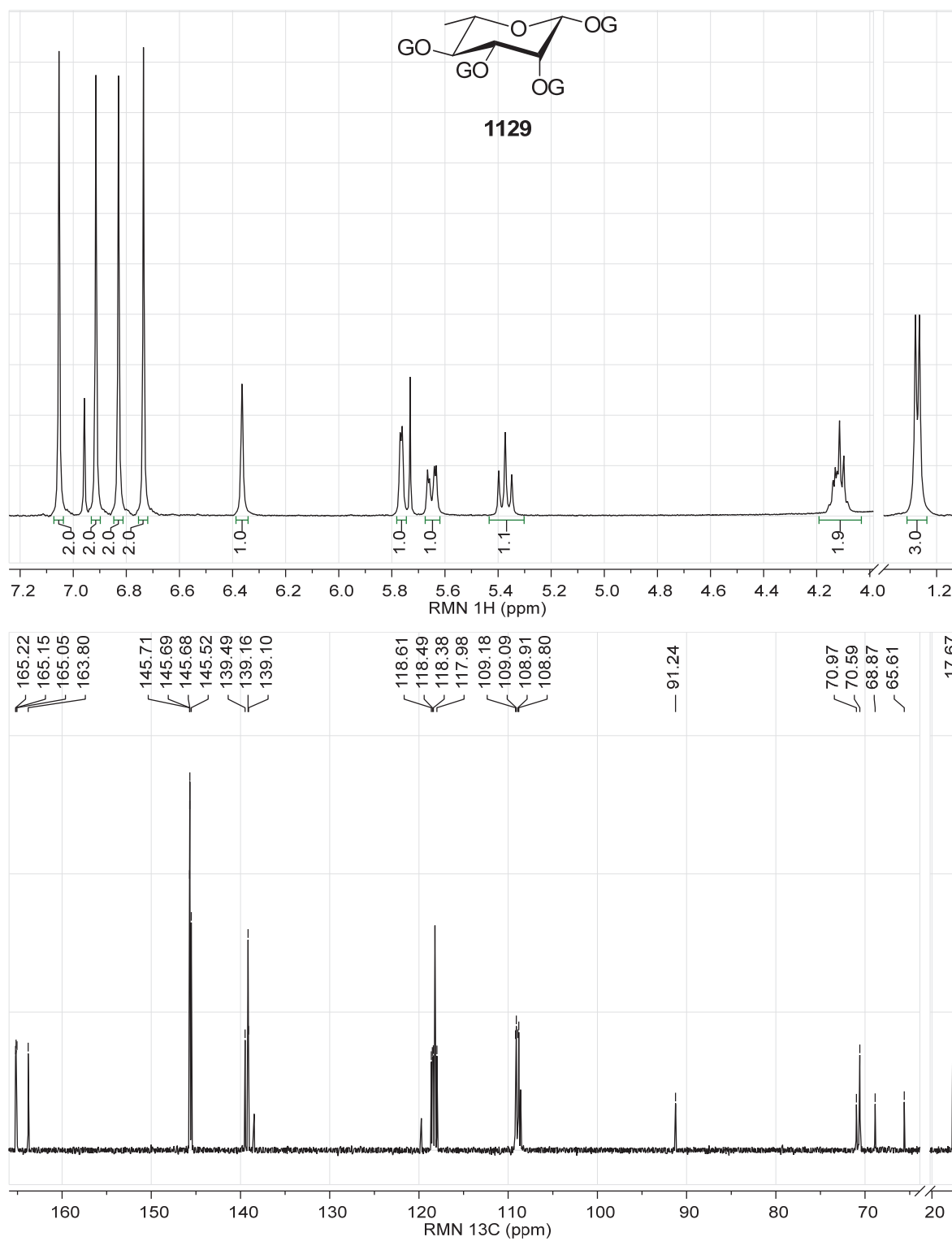
Spectres du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -L-ribofuranoside (**1120**)

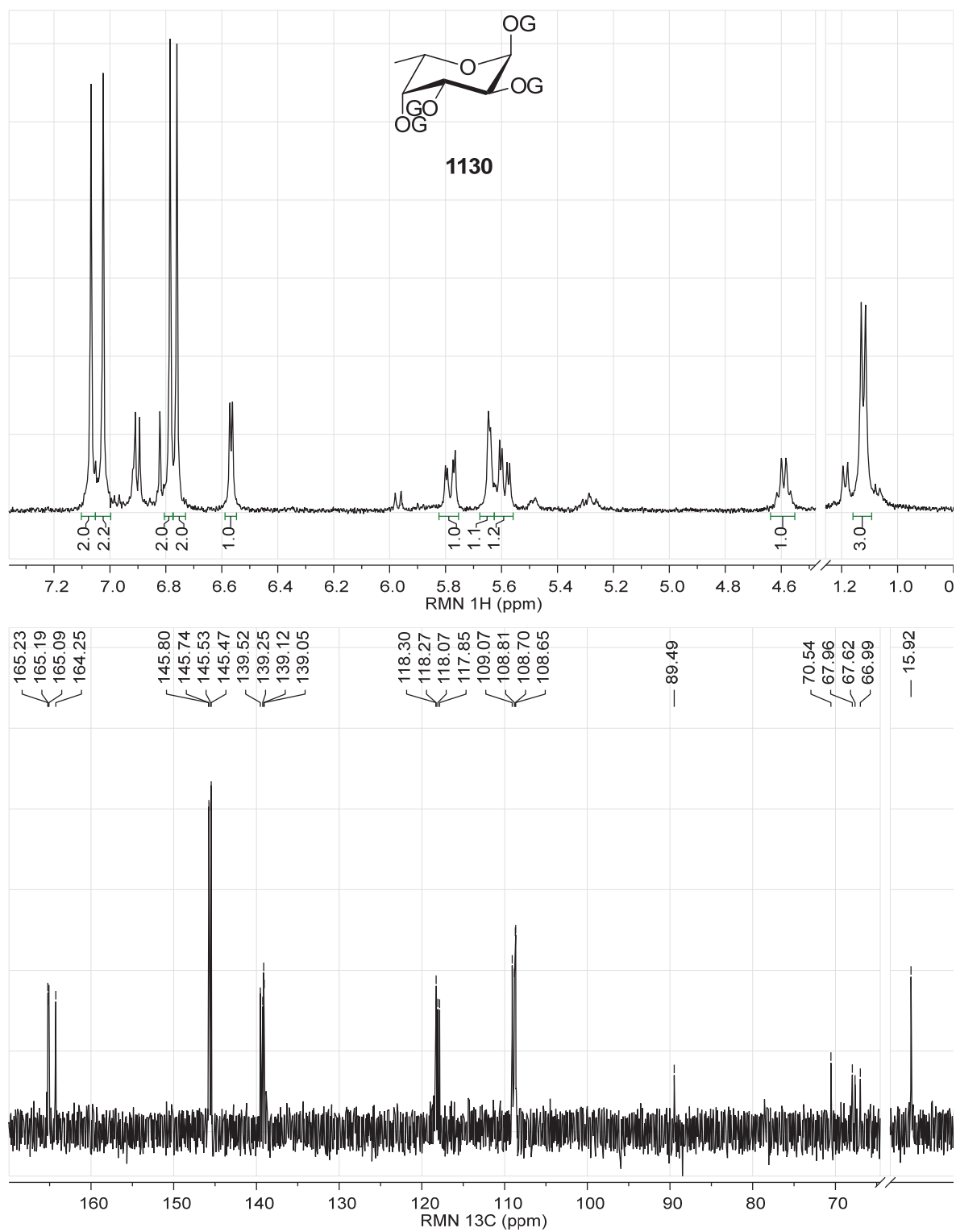
Spectres du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -L-ribofuranoside (**1121**)

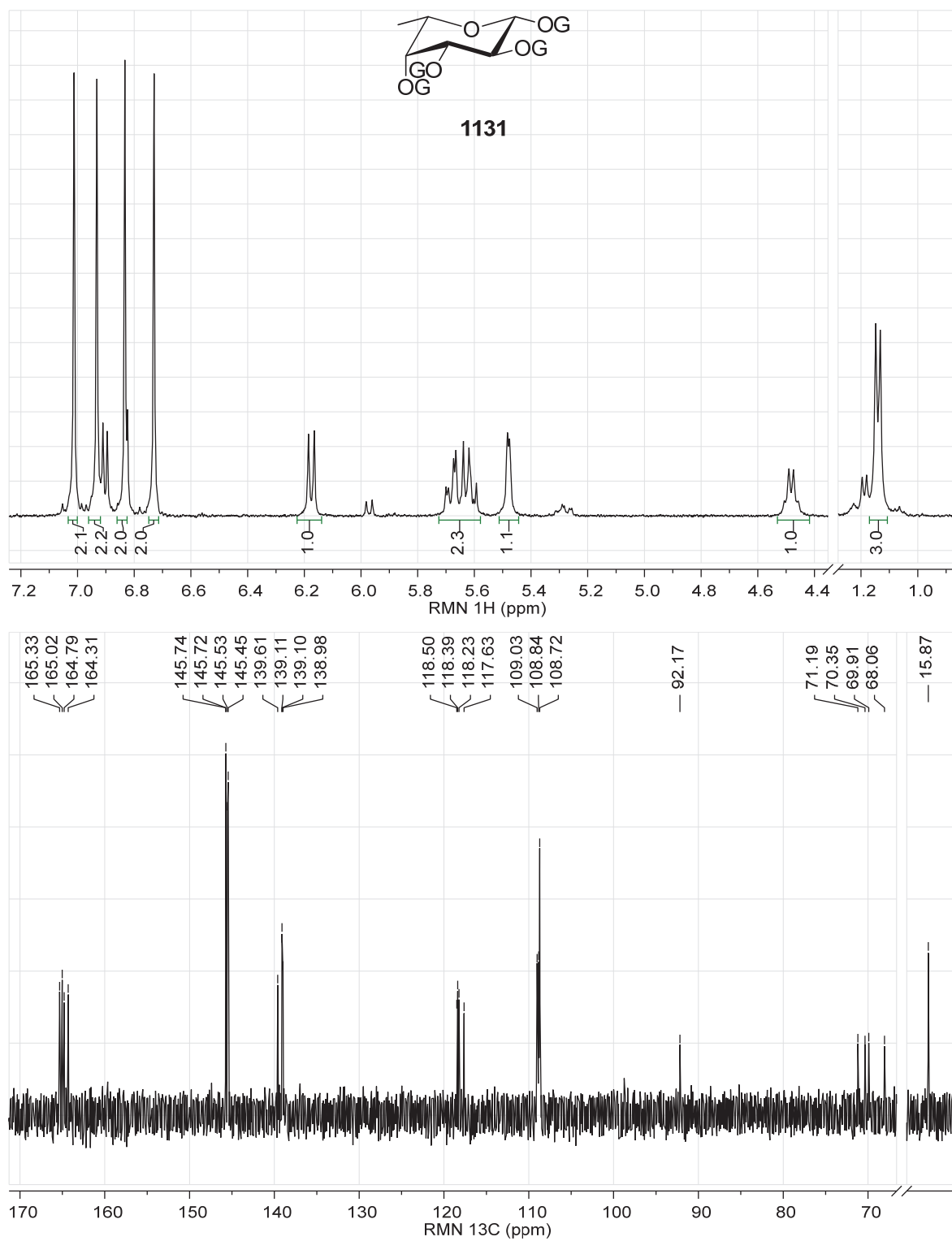
Spectres du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -L-arabinopyranoside (**1124**)

Spectres du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -L-arabinopyranoside (**1125**)

Spectres du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -L-rhamnopyranoside (**1128**)

Spectres du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -L-rhamnopyranoside (**1129**)

Spectres du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -L-fucopyranoside (**1130**)

Spectres du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -L-fucopyranoside (**1131**)

CHAPITRE 8

ÉTUDE RMN DES SUCRES PERGALLOYLÉS

Titre original

NMR STUDY OF PERGALLOYLATED SUGAR DERIVATIVES

Serge Lavoie,¹ Michael Ouellet,¹ Pierre-Yves Fleury,¹ Jean Legault,¹ and André Pichette^{1,*}

¹ *Université du Québec à Chicoutimi, Chaire de Recherche sur les Agents Anticancéreux d'Origine Végétale, Laboratoire d'Analyse et de Séparation des Essences Végétales (LASEVE), Département des Sciences Fondamentales, 555 boul. de l'Université, Chicoutimi (Québec) G7H 2B1, Canada*

* Corresponding author. E-mail: andre_pichette@uqac.ca

(Résultats à soumettre dans le journal "Magnetic Resonance in Chemistry")

Keywords : Hydrolysable tannin; Synthesis; NMR; ¹H; ¹³C; semi-selective HMBC; long-range optimized HSQC.

1. CONTRIBUTION DES AUTEURS

L'étude RMN a été complètement réalisée par Serge Lavoie. Cependant, les deux stagiaires, Michael Ouellet et Pierre-Yves Fleury, ont travaillé sur la synthèse des composés et sur plusieurs autres tâches inhérentes au déroulement d'une thèse sur deux pôles (Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, Qc, et Sainte-Rose, Guadeloupe, FWI). André Pichette et Jean Legault ont effectués une lecture attentive et ont permis l'amélioration de l'article grâce à leurs commentaires. Également, ils sont respectivement directeur et co-directeur de cette thèse.

2. REMARQUES

La numérotation des molécules de ce chapitre sera modifiée avant d'être publiée. La correspondance est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 71 : Correspondance des numéros de molécules avec l'article original

Numéro dans l'article original	Numéro utilisé dans ce document
1α	1111
1β	970
2α	1112
2β	1113
3α	1114
3β	1115
4α	1117
4β	1118
5α	1119
5β	1120
6α	1124
6β	1125
7α	1128
7β	1129
8α	1132
8β	1133
9	1116
10	1121

3. RÉSUMÉ

Une série de sucres pergallolylés a été synthétisée. Les signaux RMN ^1H et ^{13}C ont été assignés de manière détaillée à l'aide d'expérience 1D et 2D. Chaque unité galloyle a pu être assignée grâce aux expériences HMBC semi-sélective, ou HSQC optimisée pour les couplages distants.

4. ABSTRACT

A series of pergalloylated sugar were synthesized and their ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data were assigned by a combination of 1D and 2D NMR experiment. Each galloyl group could be discriminated by recording band semi-selective HMBC or long-range optimized HSQC.

5. INTRODUCTION

Cornus canadensis, an abundant flowering plant growing in North America, was shown to be active toward *Herpes simplex* virus type-1 [39]. A bioactive-guided fractionation allowed us to isolated hydrolysable tannins (chapitre 6). One of them, 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (PGG, **970**) has been the subject of several studies which were reviewed by Zhang [445]. The biological activities of PGG comprise anticancer, antioxidant, anti-mutagenic, anti-inflammatory, anti-allergy, hypo-cholesterolemic, anti-coagulation, anti-nephrolithiasis, anti-convulsion, antiviral and antibacterial activity. A series of PGG analogues were synthesized and tested for their stimulatory activity on glucose transport [446]. However the analogues were only partially characterized. In the current work, pergalloylated mixture of D-glucose (**1111**, **970**), D-mannose (**1112**, **1113**), D-galactose (**1114**, **1115**), D-xylose (**1117**, **1118**), L-ribose (**1119**, **1120**), L-arabinose (**1124**, **1125**), L-rhamnose (**1128**, **1129**) and D-fucose (**1132**, **1133**) were submitted to preparative HPLC to isolate each anomers. The ^1H and ^{13}C of these compounds were then completely assigned with the help of 1D and 2D NMR spectroscopy.

6. EXPERIMENTAL

6.1. Preparation of 3,4,5-tri(benzyloxy)benzoic acid (**1088**)

Methyl gallate (**1086**, 20 g) was dissolved in acetone (1 l). Potassium carbonate (60 g, 4 eq) and potassium iodide (7.2 g, 0.4 eq) were added and vigorously agitated. Benzyl chloride (41.3 ml, 3.3 eq) was added dropwise. The reaction was completed after 21 h of reflux. The reaction mixture was filtered and evaporated. The residue was taken-up in CH_2Cl_2 and filtered on celite. The yellow product was dissolved in EtOH 95 % (500 ml) and sodium hydroxide was added (8.7 g, 2 eq) and refluxed for 3 h. The reaction mixture was poured in HCl 0.6 N and the precipitated was recovered by filtration. The crude product was purified by recrystallization in EtOH yielding 44.0 g of white needle (**1088**, 92 % over two step).

6.2. Preparation of compounds

D-Glucose (**1089**, 75.3 mg) was suspended in dichloromethane (CH_2Cl_2) and dimethylaminopyridine (DMAP, 438.8 mg, 8.6 eq), *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC, 789.3 mg, 9.1 eq) and 3,4,5-tri(benzyloxy)benzoic acid (**1088**, 1349.7 mg, 7.3 eq) were added. The reaction was

completed after 18 h of reflux. The reaction mixture was chilled before filtration than evaporated under vacuum. The crude product was purified by flash chromatography (silica gel, Hexanes/EtOAc 70:30) yielding 970.3 mg of a α/β mixture of 1,2,3,4,6-penta-*O*-tribenzylgalloyl-D-glucopyranoside (**1111** + **970**, 102 % yield).

The benzylated PGG was dissolved in THF (100 ml) under agitation. Palladium on charcoal (10 %, 450.6 mg, 0.1 eq) was added. The reaction mixture was flushed with H₂ for 1 h then pressurized to 15 psi for 15 h. At completion, the reaction mixture was filtered on celite then vacuum evaporated. The reaction mixture was purified with preparative HPLC (30 \rightarrow 50 % MeOH in 15 min) to yield 99.9 mg of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**970**, 25 %) and 94.4 mg of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- α -D-glucopyranoside (**1111**, 24 %).

All other galloylated sugar were prepared with the same protocol. Yields ranged from 3 to 31 %.

6.3. Spectra

The ¹H and ¹³C NMR spectra were recorded in DMSO-d₆ at 19-20 °C with a Bruker Avance II spectrometer (Bruker BioSpin Corporation, Milton, Canada) working at 400 MHz for ¹H and 100 MHz for ¹³C NMR, respectively. Chemical shifts are given in the δ -scale and are referenced to the solvent residual peak (DMSO-d₆: δ_c = 39.52 ppm and δ_H = 2.50 ppm). Pulse program of all experiments [¹H, ¹³C, DEPT-135, DQF-COSY, HSQC, HMBC, sel. HMBC] were taken from the Bruker software library. In the one-dimensional measurements, 64K data points were used for the FID, sweep widths: 6400 and 24 000 Hz, for ¹H and ¹³C respectively. The ROESY spectra were acquired with a 200 ms mixing time. For two-dimensional measurement, sweep width in F2 was adjusted to the observed resonance, between 1400 to 2800 Hz, and all data points ($t_2 \times t_1$) were acquired with 2K \times 256. In F1, linear prediction was applied to enhance the resolution. The heteronuclear 2D experiment were recorded with a one-bond heteronuclear coupling value set to 140 Hz and a long-range coupling value set to 10 Hz. The selective HSQC and HMBC were recorded using a gaussian shaped inversion or excitation pulse of 1468 μ s and 4244 μ s, respectively.

7. RESULTS AND DISCUSSION

Synthesis of eight fully galloylated sugar derivatives (figure 146) was achieved each in two steps, namely a modified Steglich esterification followed by a catalytic hydrogenolysis. HPLC separation

of each mixture provided sixteen compounds, eight α - and eight β -configured, which were fully characterized by NMR spectroscopy (tables 72-77). The proton signals of the sugar cores were assigned on the basis of ^1H - ^1H COSY and were transferred to carbon through HSQC experiment. Most of the time, the anomeric configuration was determined from coupling constant. However, the case of mannose (**1112/1113**) and rhamnose (**1128/1129**), which showed low ^1H - ^1H coupling for both anomers, were resolved with the help of $^1J_{\text{C-H}}$ measured in the ^1H dimension of a coupled HSQC experiment (table 78).

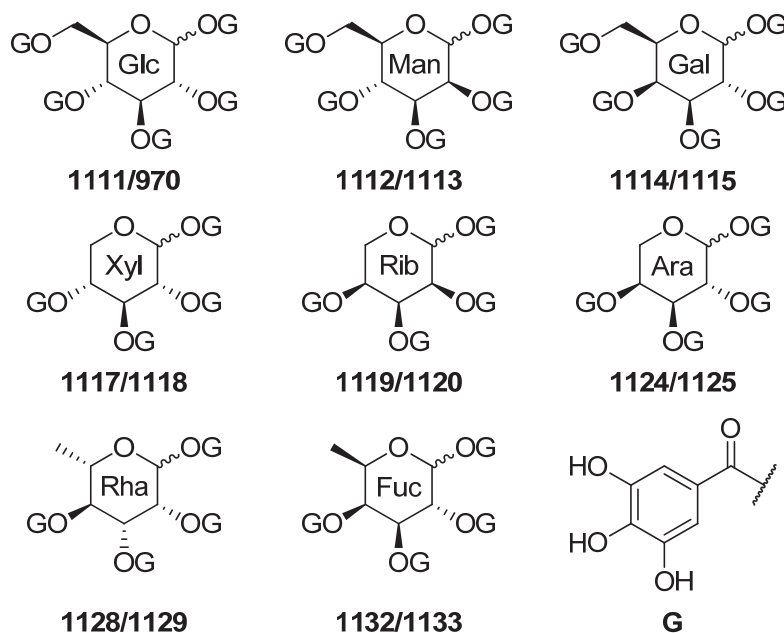


Figure 146: Structures 970-1133

Table 72: ^1H NMR chemical shifts and their multiplicities^a for glucose and mannose derivatives in DMSO- d_6

Position ^b	$\alpha\text{-Glc}pG_5$ (1111)	$\beta\text{-Glc}pG_5$ (970)	$\alpha\text{-Man}pG_5$ (1112)	$\beta\text{-Man}pG_5$ (1113)
H-1	6.63 d (3.6)	6.39 d (8.2)	6.33 d (1.9)	6.49 s
H-2	5.42 dd (10.3, 3.7)	5.44 t (9.2)	5.62 t (2.6)	5.78 d (3.3)
H-3	5.99 t (10.0)	5.97 t (9.6)	5.72 dd (10.2, 3.2)	5.81 dd (9.7, 3.2)
H-4	5.60 t (9.9)	5.46 t (10.5)	5.66 t (9.8)	5.50 t (9.8)
H-5	4.51 br d (10.4)	4.60 br d (10.0)	4.48 m	4.47 t (9.3)
H-6	4.33 br s	4.32 br s	4.43 d (11.5) 4.35 dd (12.2, 7.2)	4.41 d (11.6) 4.30 dd (12.2, 8.2)
G-1	7.11 s	6.93 s	7.15 s	6.83 s
G-2	6.80 s	6.83 s	7.03 s	7.05 s
G-3	6.84 s	6.78 s	6.79 s	6.74 s
G-4	6.90 s	6.86 s	6.98 s	6.93 s
G-6	7.01 s	6.99 s	6.93 s	6.95 s

^a Coupling constant are given in parentheses; ^b G-1 to G-6 represent H-2,6 of galloyl moieties positioned on the corresponding sugar hydroxy.

Table 73: ^1H NMR chemical shifts and their multiplicities^a for galactose and xylose derivatives in DMSO- d_6

Position ^b	$\alpha\text{-Gal}pG_5$ (1114)	$\beta\text{-Gal}pG_5$ (1115)	$\alpha\text{-Xyl}pG_4$ (1117)	$\beta\text{-Xyl}pG_4$ (1118)
H-1	6.66 d (3.5)	6.32 d (8.3)	6.51 d (3.7)	6.17 d (8.1)
H-2	5.64 dd (10.8, 3.6)	5.68 dd (10.3, 8.2)	5.43 dd (10.4, 3.8)	5.43 dd (9.8, 8.1)
H-3	5.83 dd (10.9, 3.2)	5.80 dd (10.5, 3.3)	5.90 t (10.0)	5.85 t (9.6)
H-4	5.88 d (3.4)	5.71 d (3.5)	5.39 td (10.2, 5.9)	5.26 td (9.6, 5.7)
H-5	4.81 t (6.9)	4.80 t (6.7)	4.14 dd (11.2, 5.8) 3.81 t (11.1)	4.19 dd (11.5, 5.5) 3.91 t (10.7)
H-6	4.29 dd (11.2, 6.5) 4.20 dd (11.1, 6.8)	4.30 dd (11.9, 6.6) 4.22 dd (11.5, 6.3)		
G-1	7.10 s	6.95 s	7.05 s	6.90 s
G-2	6.78 s	6.84 s	6.78 s	6.82 s
G-3	6.76 s	6.74 s	6.87 s	6.82 s
G-4	7.01 s	7.01 s	6.89 s	6.86 s
G-6	6.88 s	6.93 s		

^a Coupling constant are given in parentheses; ^b G-1 to G-6 represent H-2,6 of galloyl moieties positioned on the corresponding sugar hydroxy.

Table 74: ^1H NMR chemical shifts and their multiplicities^a for ribose and arabinose derivatives in DMSO- d_6

Position ^b	α -RibpG ₄ (1119)	β -RibpG ₄ (1120)	α -ArapG ₄ (1124)	β -ArapG ₄ (1125)
H-1	6.38 br s	6.24 d (8.0)	6.12 d (7.2)	6.57 d (3.5)
H-2	5.56 t (3.8)	5.36 dd (8.2, 3.0)	5.69 m	5.64 dd (10.8, 3.6)
H-3	5.94 br s	5.98 t (2.9)	5.69 m	5.78 dd (10.8, 3.3)
H-4	5.36 dt (8.5, 3.9)	5.39 m	5.56 br s	5.70 d (3.5)
H-5	4.29 t (10.1) 4.03 dd (11.6, 4.4)	4.22 dd (11.2, 5.1) 4.07 t (10.6)	4.26 br d (13.0) 4.10 br d (12.6)	4.30 br d (13.2) 4.00 br d (13.0)
H-6				
G-1	7.02 s	6.95 s	6.94 s	7.07 s
G-2	6.88 s	6.78 s	6.87 s	6.81 s
G-3	7.03 s	7.02 s	6.78 s	6.79 s
G-4	6.86 s	6.81 s	7.02 s	7.02 s

^a Coupling constant are given in parentheses; ^b G-1 to G-6 represent H-2,6 of galloyl moieties positioned on the corresponding sugar hydroxy.

Table 75: ^1H NMR chemical shifts and their multiplicities^a for rhamnose and fucose derivatives in DMSO- d_6

Position ^b	α -RhapG ₄ (1128)	β -RhapG ₄ (1129)	α -FucpG ₄ (1132)	β -FucpG ₄ (1133)
H-1	6.22 br s	6.36 s	6.57 d (3.6)	6.18 d (8.0)
H-2	5.59 d (3.1)	5.77 d (3.3)	5.59 dd (10.9, 3.6)	5.62 dd (10.5, 7.9)
H-3	5.63 dd (10.1, 3.4)	5.65 dd (10.2, 3.2)	5.78 dd (11.0, 3.3)	5.68 dd (10.5, 3.4)
H-4	5.47 t (9.9)	5.37 t (9.8)	5.64 d (3.5)	5.48 d (3.5)
H-5	4.21 m	4.13 m	4.59 q (6.6)	4.48 q (6.6)
H-6	1.26 d (6.1)	1.27 d (6.0)	1.12 d (6.4)	1.14 d (6.3)
G-1	7.12 s	6.83 s	7.07 s	6.93 s
G-2	7.02 s	7.05 s	6.79 s	6.83 s
G-3	6.77 s	6.74 s	6.76 s	6.73 s
G-4	6.95 s	6.91 s	7.02 s	7.01 s

^a Coupling constant are given in parentheses; ^b G-1 to G-6 represent H-2,6 of galloyl moieties positioned on the corresponding sugar hydroxy.

Table 76: ^{13}C NMR chemical shifts for glucose, mannose, galactose and xylose derivatives in DMSO- d_6

Position	Glc pG_5		Man pG_5		Gal pG_5		Xyl pG_4	
	α (1111)	β (970)	α (1112)	β (1113)	α (1114)	β (1115)	α (1117)	β (1118)
Sugar								
1	89.22	91.96	91.04	91.33	89.35	92.18	89.22	92.53
2	70.09	70.82	68.37	68.51	67.01	68.19	69.85	70.39
3	69.71	72.19	69.42	70.75	67.62	70.91	69.14	71.63
4	67.62	67.98	65.72	66.14	67.62	67.71	68.57	69.17
5	70.52	72.40	71.30	72.97	69.26	71.78	60.74	62.89
6	61.50	61.68	63.20	63.54	61.23	61.60		
Galloyl at O-1								
1	118.12	117.60	117.87	117.72	117.84	117.52	117.99	117.55
2,6	109.35	109.28	109.29	109.02	109.18	109.18	109.06	109.01
3,5	146.07	145.92	145.98	145.65	145.81	145.84	145.89	145.68
4	139.97	139.92	139.82	139.47	139.63	139.81	139.68	139.60
7	164.29	164.21	163.43	163.55	164.06	164.23	164.21	164.16
Galloyl at O-2								
1	117.97	118.18	118.27	118.37	117.72	118.21	117.87	118.04
2,6	109.07	109.05	109.16	109.11	108.70	108.83	108.88	108.79
3,5	145.74	145.71	145.83	145.67	145.54	145.63	145.57	145.50
4	139.57	139.41	139.41	139.13	139.30	139.25	139.30	139.11
7	165.23	164.86	164.71	165.03	165.16	164.86	165.03	164.54
Galloyl at O-3								
1	118.36	118.35	118.22	118.11	118.15	118.41	118.33	118.26
2,6	109.01	108.97	108.86	108.71	108.70	108.83	108.88	108.80
3,5	145.67	145.63	145.59	145.48	145.48	145.54	145.54	145.46
4	139.28	139.18	139.26	139.12	139.09	139.10	139.07	138.94
7	165.26	165.08	165.20	164.92	165.06	165.09	165.12	164.87
Galloyl at O-4								
1	118.22	118.32	118.04	118.02	118.07	118.38	118.12	118.19
2,6	109.19	109.14	109.10	108.95	108.85	108.95	108.97	108.87
3,5	145.79	145.74	145.73	145.62	145.76	145.85	145.66	145.57
4	139.43	139.37	139.41	139.31	139.25	139.33	139.21	139.11
7	164.68	164.72	165.03	165.18	164.69	164.94	164.95	164.96
Galloyl at O-6								
1	119.22	119.15	118.92	118.82	118.58	118.74		
2,6	109.07	109.01	108.92	108.79	108.77	108.90		
3,5	145.82	145.80	145.67	145.62	145.57	145.73		
4	139.02	139.03	138.92	138.83	138.89	139.05		
7	165.71	165.69	165.78	165.73	165.34	165.54		

Table 77: ^{13}C NMR chemical shifts for ribose, arabinose, rhamnose and fucose derivatives in DMSO- d_6

Position	RibpG ₄		ArapG ₄		RhapG ₄		FucpG ₄	
	α (1119)	β (1120)	α (1124)	β (1125)	α (1128)	β (1129)	α (1132)	β (1133)
Sugar								
1	89.13	90.72	92.75	89.79	90.92	91.24	89.49	92.17
2	67.04	68.61	68.34	67.17	68.54	65.61	66.99	68.06
3	67.33	67.91	70.83	67.28	69.38	70.97	67.96	71.19
4	66.33	66.56	68.36	68.50	70.06	70.59	70.54	70.35
5	59.13	62.26	65.15	62.90	68.98	68.87	67.62	69.91
6					17.68	17.67	15.92	15.87
Galloyl at O-1								
1	118.58	117.54	117.66	117.86	117.93	117.98	118.07	117.63
2,6	109.39	108.98	109.10	109.01	109.14	109.09	109.07	109.03
3,5	145.66	145.73	145.77	145.78	145.90	145.69	145.80	145.72
4	139.33	139.68	139.70	139.63	139.68	139.49	139.52	139.61
7	165.03	164.37	164.36	164.23	163.55	163.80	164.25	164.31
Galloyl at O-2								
1	118.58	118.01	118.28	117.72	118.24	118.61	117.85	118.23
2,6	109.12	108.72	108.82	108.68	109.02	109.18	108.70	108.72
3,5	145.50	145.55	145.60	145.51	145.74	145.71	145.53	145.53
4	139.07	139.20	139.18	139.32	139.32	139.16	139.25	139.10
7	165.15	164.52	164.81	165.15	164.60	165.15	165.23	164.79
Galloyl at O-3								
1	118.99	118.36	118.44	118.17	118.24	118.38	118.27	118.39
2,6	109.26	108.92	108.82	108.68	108.76	108.80	108.65	108.72
3,5	145.55	145.69	145.52	145.46	145.49	145.52	145.47	145.45
4	138.90	139.10	139.07	139.10	139.13	139.10	139.05	138.98
7	165.70	164.80	165.09	165.04	165.20	165.05	165.09	165.02
Galloyl at O-4								
1	118.67	118.34	118.86	118.55	118.24	118.49	118.30	118.50
2,6	108.99	108.82	108.91	108.79	108.87	108.91	108.81	108.84
3,5	145.57	145.55	145.74	145.66	145.67	145.68	145.74	145.74
4	138.99	139.07	139.10	139.05	139.19	139.16	139.12	139.11
7	164.98	164.78	165.05	164.85	165.04	165.22	165.19	165.33

The four or five galloyl groups were first assigned with the help of HMBC. Indeed, H-2',6' protons of each galloyl unit correlated with C-1', C-3',5', C-4' and C-7'. To discriminate each group of carbon, semi-selective HSQC, semi-selective HMBC or semi-selective long-range optimized HSQC [460] were acquired with 1 KHz F1 spectral width (figure 147). Once all galloyl carbons were assigned, including the carbonyl function, their position on the sugar core were determined from the respective oxymethine proton HMBC correlation with a carbonyl of one galloyl unit.

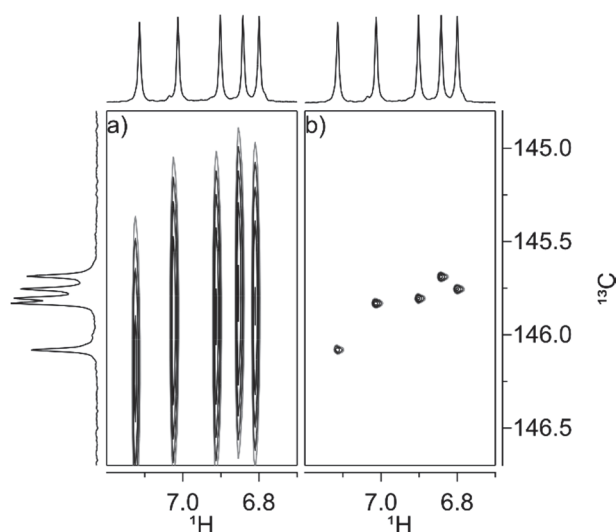


Figure 147: HMBC (a) and selective HMBC (b) of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (**970**)

(a) is an expansion of the HMBC recorded with a spectral width of 12 KHz in F1. (b) is the full semi-selective HMBC recorded with a spectral width of 0.2 KHz in F1 and centered at 145.9 ppm.

Table 78: $^1J_{H-C}$ (Hz) for sugar derivatives in DMSO- d_6

Sugar	α	β
Glc	181.0	170.3
Man	179.7	167.0
Gal	177.7	171.5
Xyl	177.7	170.8
Rib	174.4	170.0
Ara	170.3	179.8
Rha	177.7	166.3
Fuc	179.1	169.0

The case of α -L-Arabinopyranoside (**1124**) was complicated. Indeed, proton H-2 and H-3 of the sugar core was perfectly overlapping at δ_H 5.68. On the semi-selective HMBC, it was possible to distinguish the correlation between H-1 and the corresponding galloyl carbonyl at δ_C 164.37. However, the correlation of H-4 was not visible and those of H-2 and H-3 were unusable. Thus, another strategy was used which consist in a sequence of 1D selective ROESY experiment (figure 148). Irradiation of G-1 (H-2',6' of galloyl unit on O-1) at δ_H 6.95 resulted in a spectrum with correlation at δ_H 6.87 which was assigned to G-2. Three other selective ROESY spectra were acquired to successively assigned G-2 to G-4. Once the H-2',6' protons were assigned, it was easy to determine the chemical shifts of the other positions.

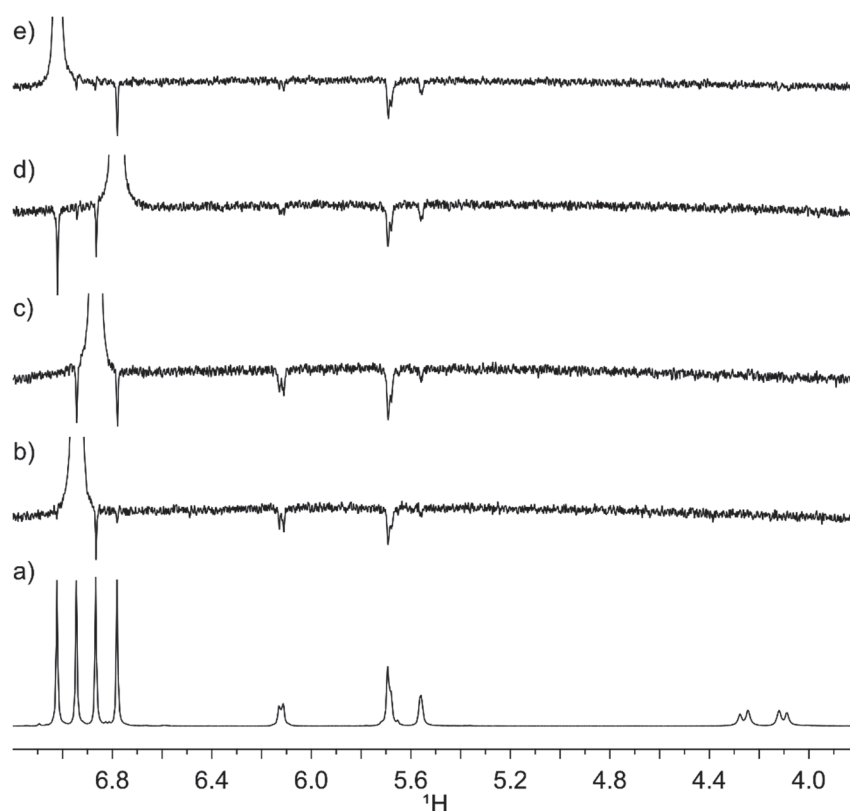


Figure 148: 1D selective ROESY with irradiation of H-2',6' for G-1 (b), G-2 (c), G-3 (d) and G-4 (e). (a) is the 1D ^1H spectrum

During galloylation of galactose and ribose, a third compound was isolated from both reaction mixture (figure 149). The careful examination of ^1H - ^1H DQF-COSY suggested that these compounds were the furanoside form of the respective sugar. Indeed, H-4 of 1,2,3,5,6-penta-*O*-galloyl- β -D-galactofuranoside (**1116**) show an upfield signal at δ_{H} 4.60 in comparison with H-4 signals of compound **1114** and **1115** at δ_{H} 5.88 and 5.71, respectively, indicating that the galloyl group was at O-5 rather than at O-4 (table 79). Also, H-1 showed a HMBC correlation with C-4 further supporting the furanoside form of **1116**. The β -configuration was determined on the basis of its observed $^3J_{\text{H1,H2}}$ of 4.6 Hz [453]. 1,2,3,5-tetra-*O*-galloyl- β -L-ribofuranoside (**1121**) was assigned the same way from the upfield H-4 signal at δ_{H} 4.64 and an HMBC correlation from H-1 to C-4. A broad singlet was observed on the ^1H NMR spectrum which is consistent with the β -configured ribofuranoside. Indeed, Houseknecht *et al.* measured the $^3J_{\text{H1,H2}}$ for methyl α - and methyl β -ribofuranoside and obtained 4.4 and 1.3 Hz, respectively [461].

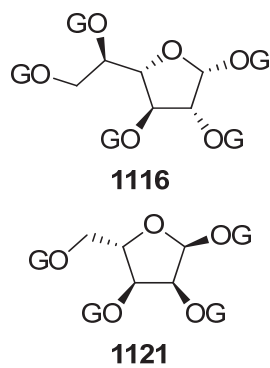


Figure 149: Structures **1116** and **1121**

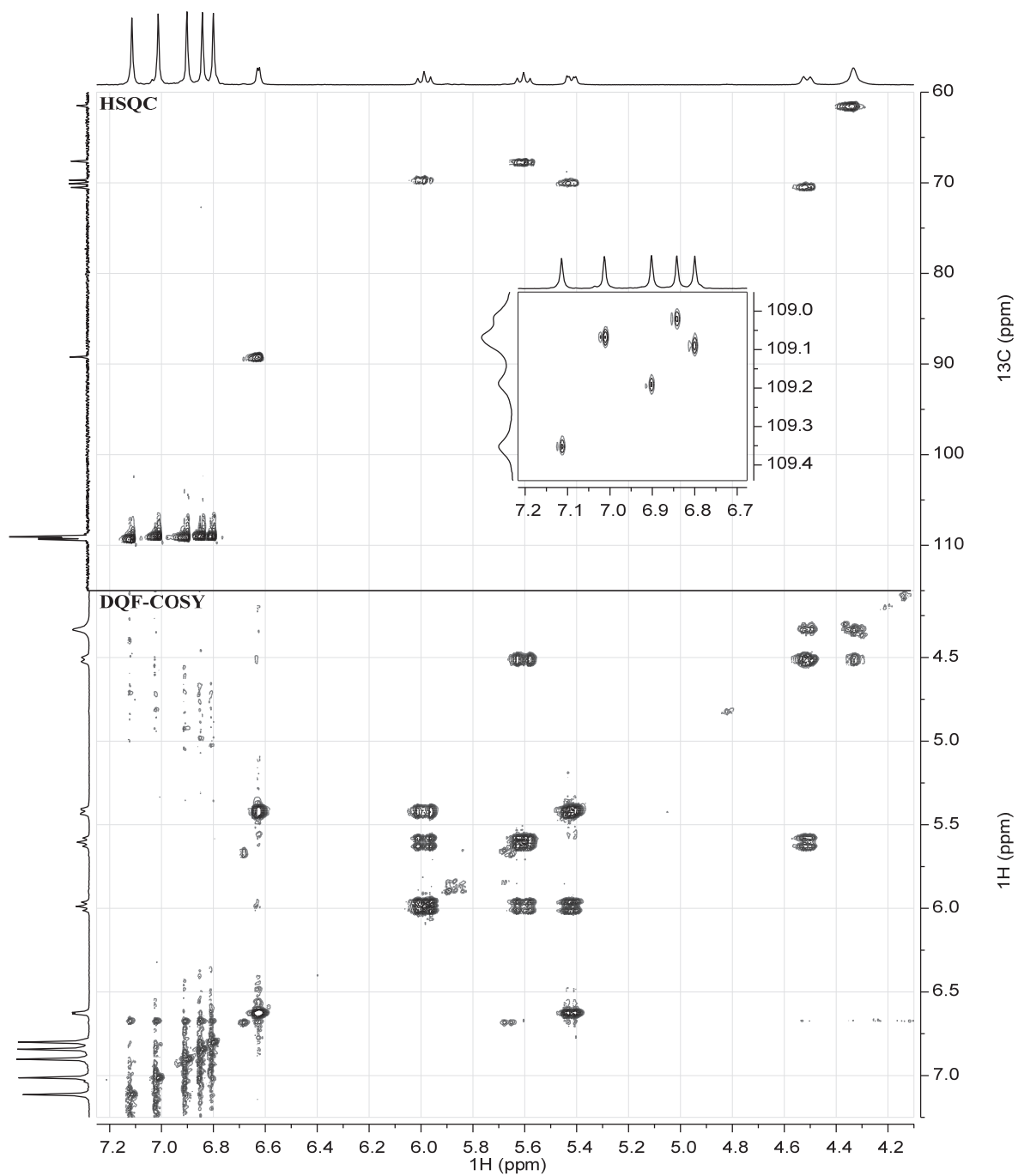
Table 79: ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data for derivatives **1116** and **1121** in DMSO- d_6

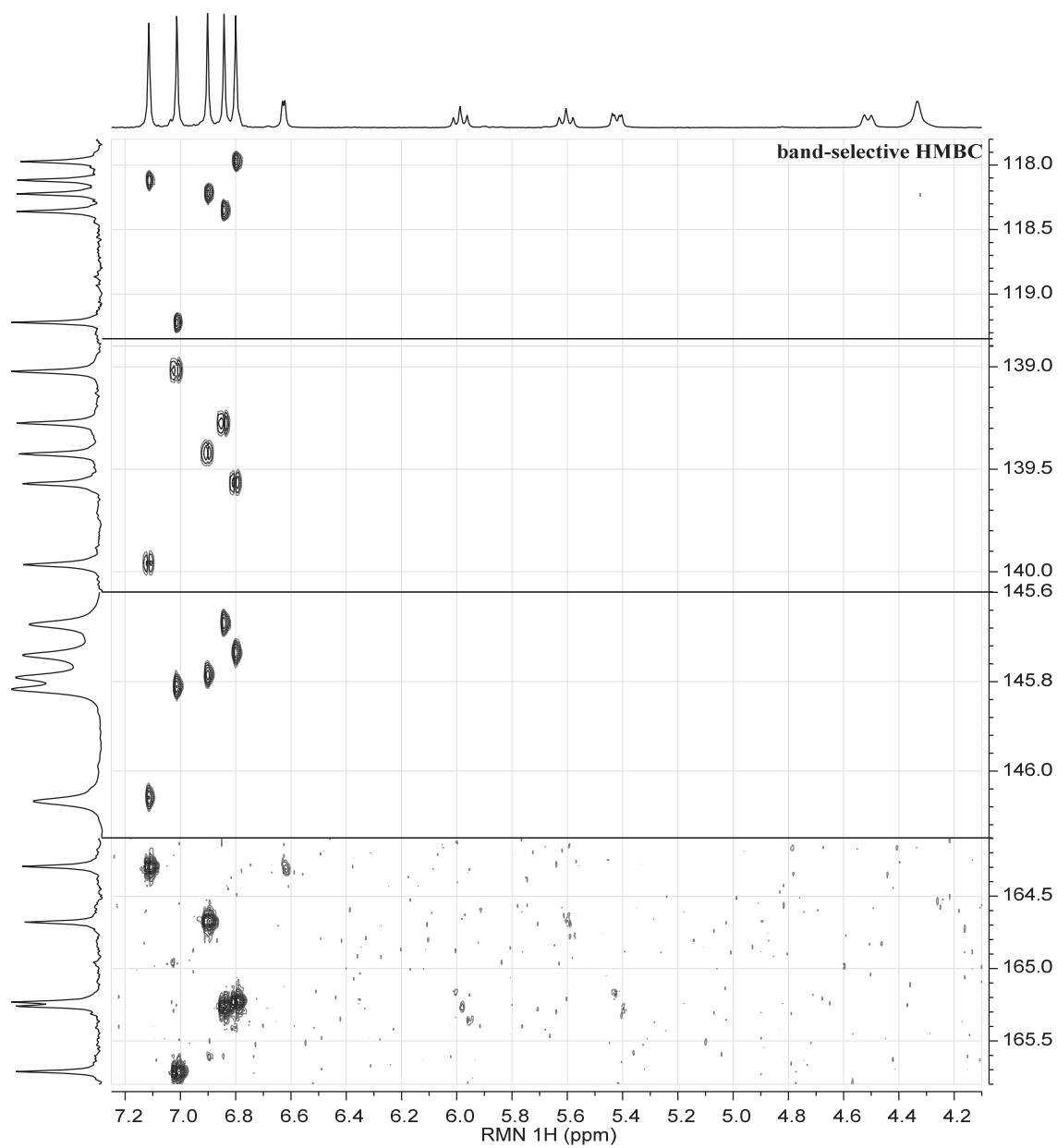
Position	β -Gal/G ₅ (1116)		β -Rib/G ₅ (1121)	
	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H
Sugar				
1	93.04	6.57 d (4.7)	98.51	6.37 br s
2	75.91	5.68 dd (7.7, 4.7)	73.95	5.66 br d (4.8)
3	73.29	5.97 t (7.3)	71.35	5.59 t (5.8)
4	77.98	4.60 t (7.4)	79.69	4.65 m
5	71.60	5.57 t (8.2)	65.70	4.65 m
				4.23 dd (12.6, 9.1)
6	62.23	4.51 br d (11.2) 4.37 dd (12.5, 7.6)	-	-
Galloyl at O-1				
1	118.45	-	118.09	-
2,6	109.10	7.00 s	109.05	7.03 s
3,5	145.69	-	145.76	-
4	139.30	-	139.46	-
7	164.49	-	164.15	-
Galloyl at O-2				
1	117.90	-	117.99	-
2,6	109.00	6.90 s	108.91	6.95 s
3,5	145.67	-	145.66	-
4	139.30	-	139.20	-
7	165.07	-	164.50	-
Galloyl at O-3				
1	118.09	-	118.04	-
2,6	109.21	7.01 s	108.91	6.90 s
3,5	145.70	-	145.60	-
4	139.33	-	139.15	-
7	165.09	-	165.03	-
Galloyl at O-5				
1	118.85	-	118.75	-
2,6	109.00	6.89 s	108.74	6.97 s
3,5	145.65	-	145.64	-
4	138.97	-	138.80	-
7	164.95	-	165.57	-
Galloyl at O-6				
1	118.72	-	-	-
2,6	108.78	6.83 s	-	-
3,5	145.57	-	-	-
4	138.85	-	-	-
7	165.59	-	-	-

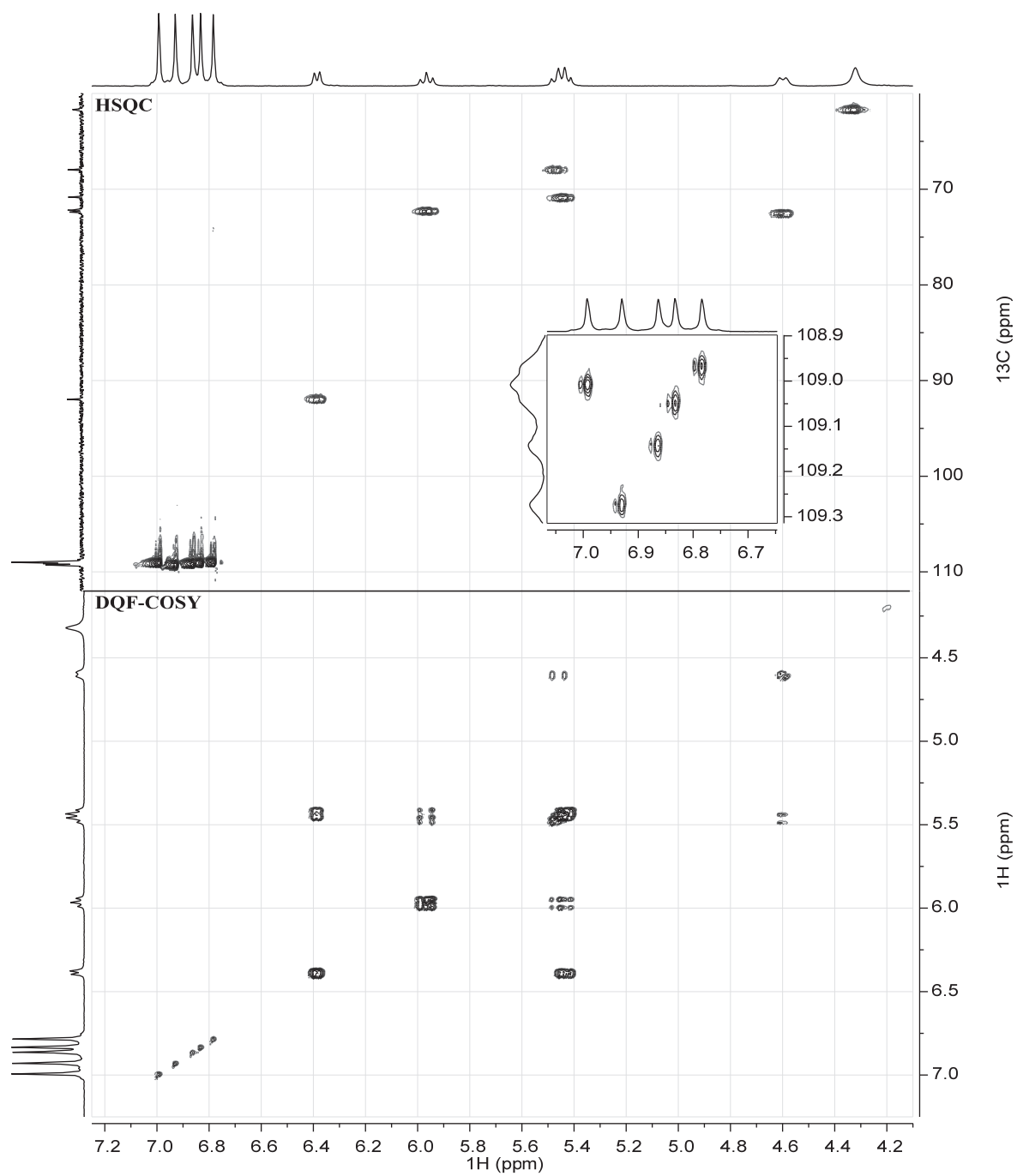
8. ACKNOWLEDGEMENTS

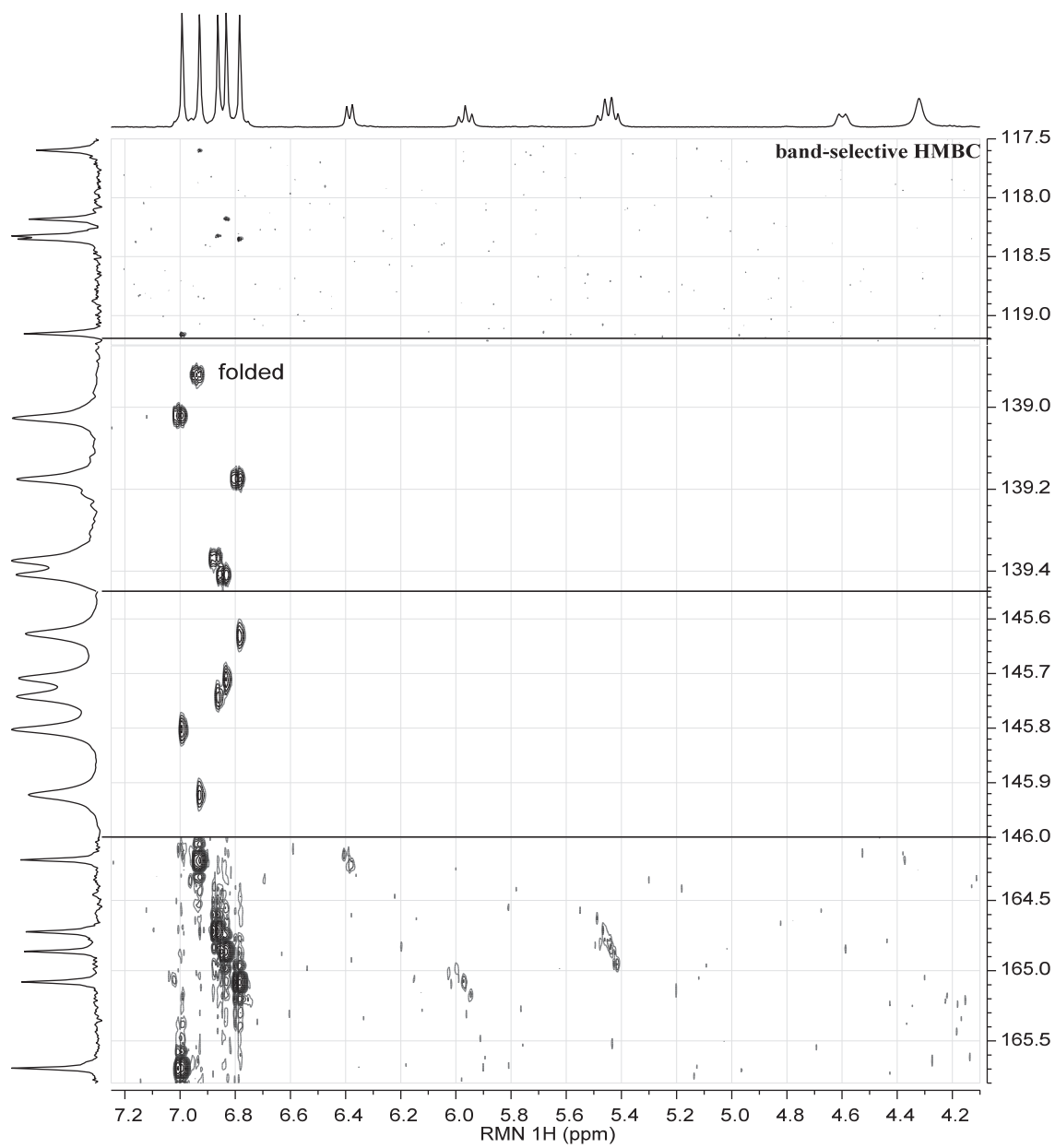
The authors thankfully acknowledge financial support to "Bourses de réintégration à la recherche" from "Fonds de recherche Nature et technologies", Québec's government.

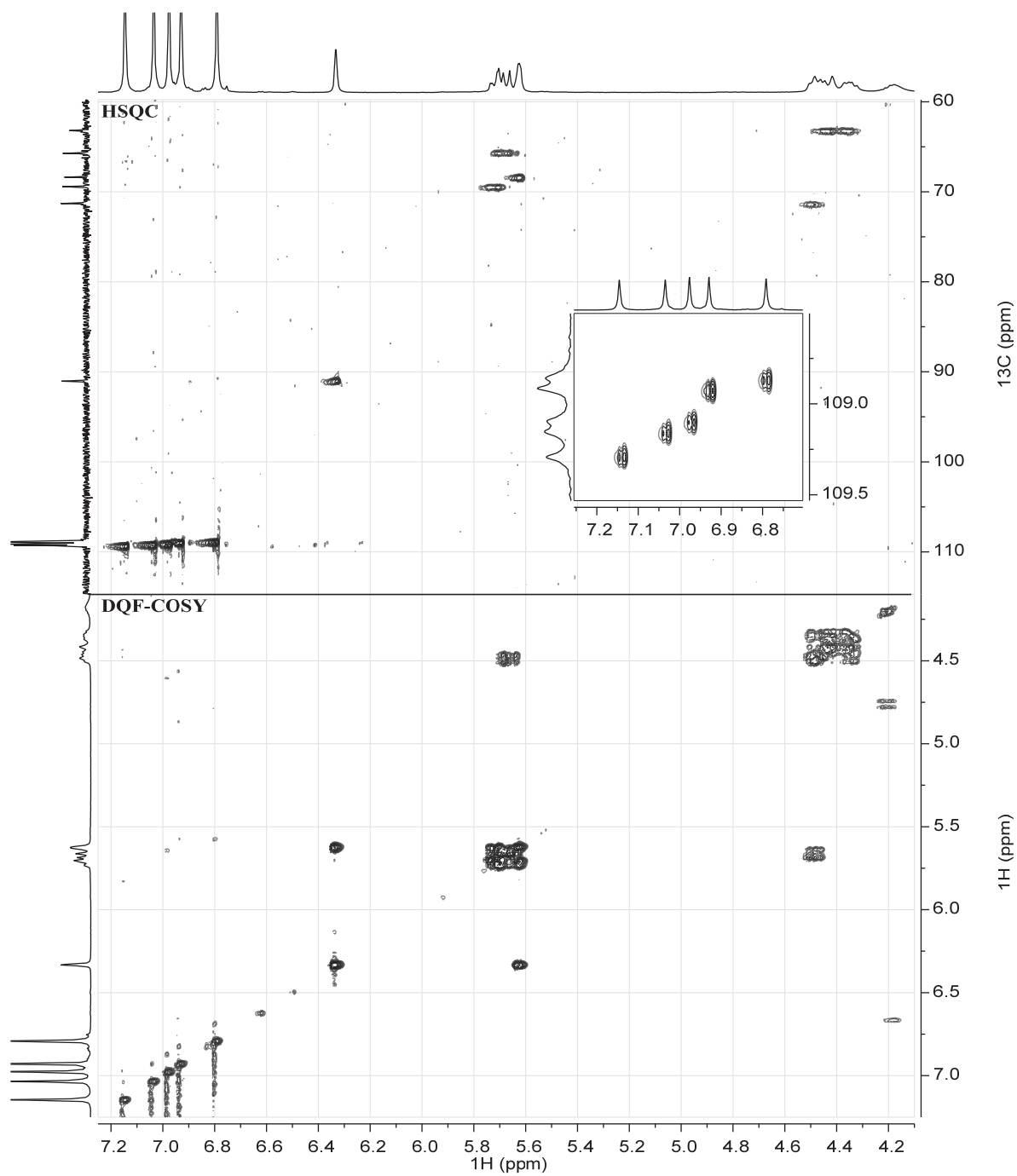
ANNEXE K : SUPPORTING INFORMATIONS

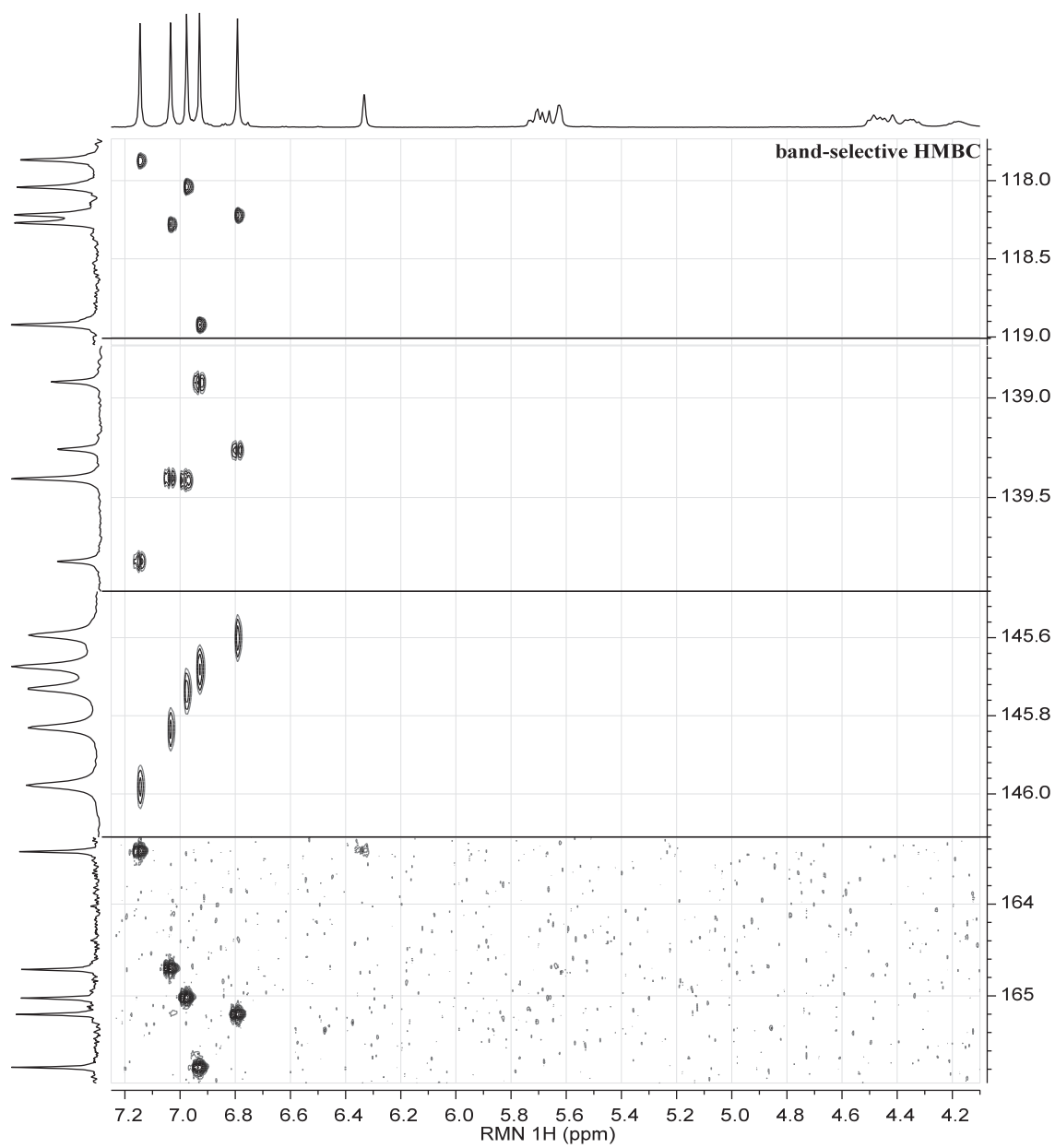
2D NMR spectra of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- α -D-glucopyranoside (**1111**)

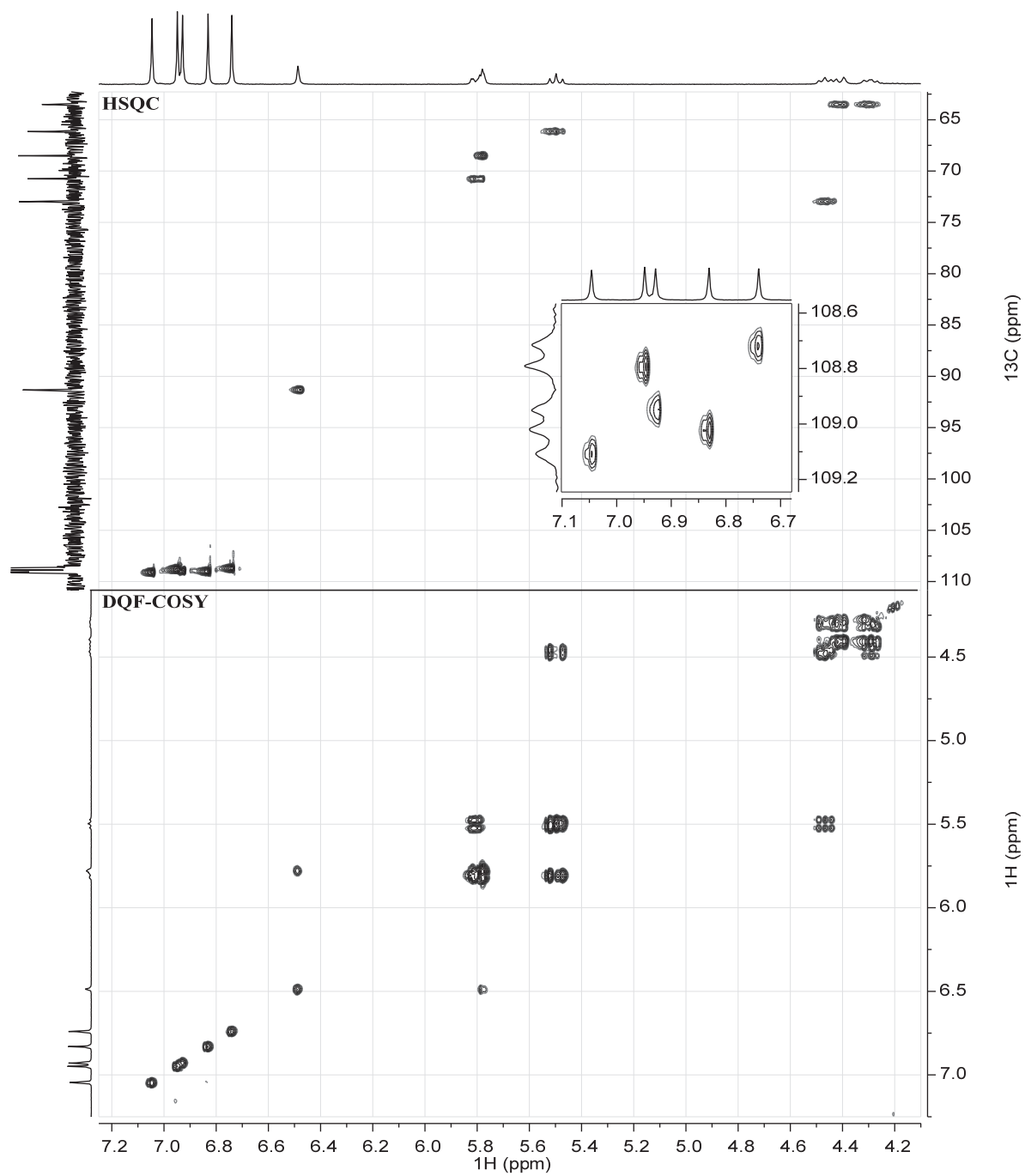


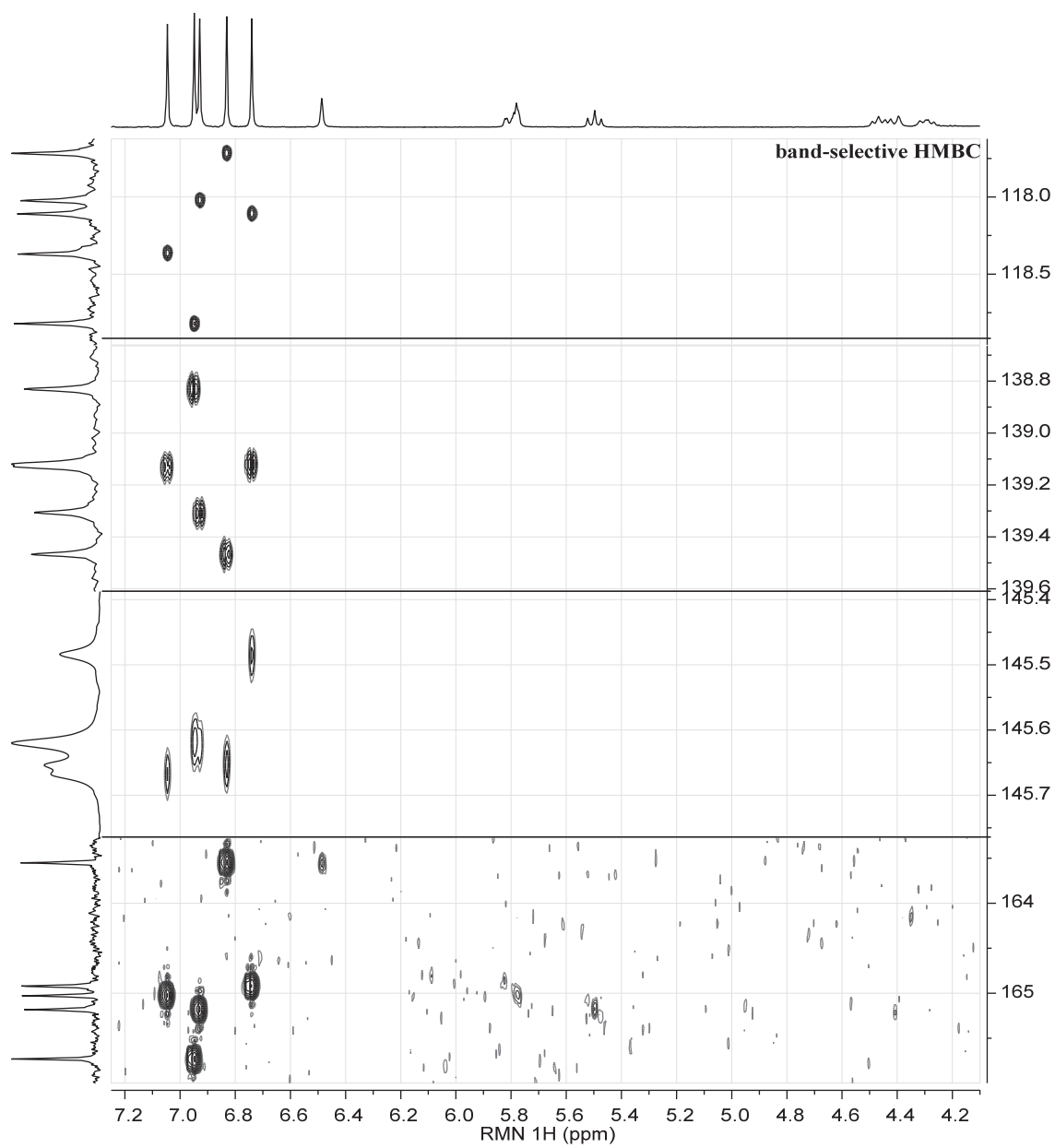
2D NMR spectra of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucopyranoside (970)

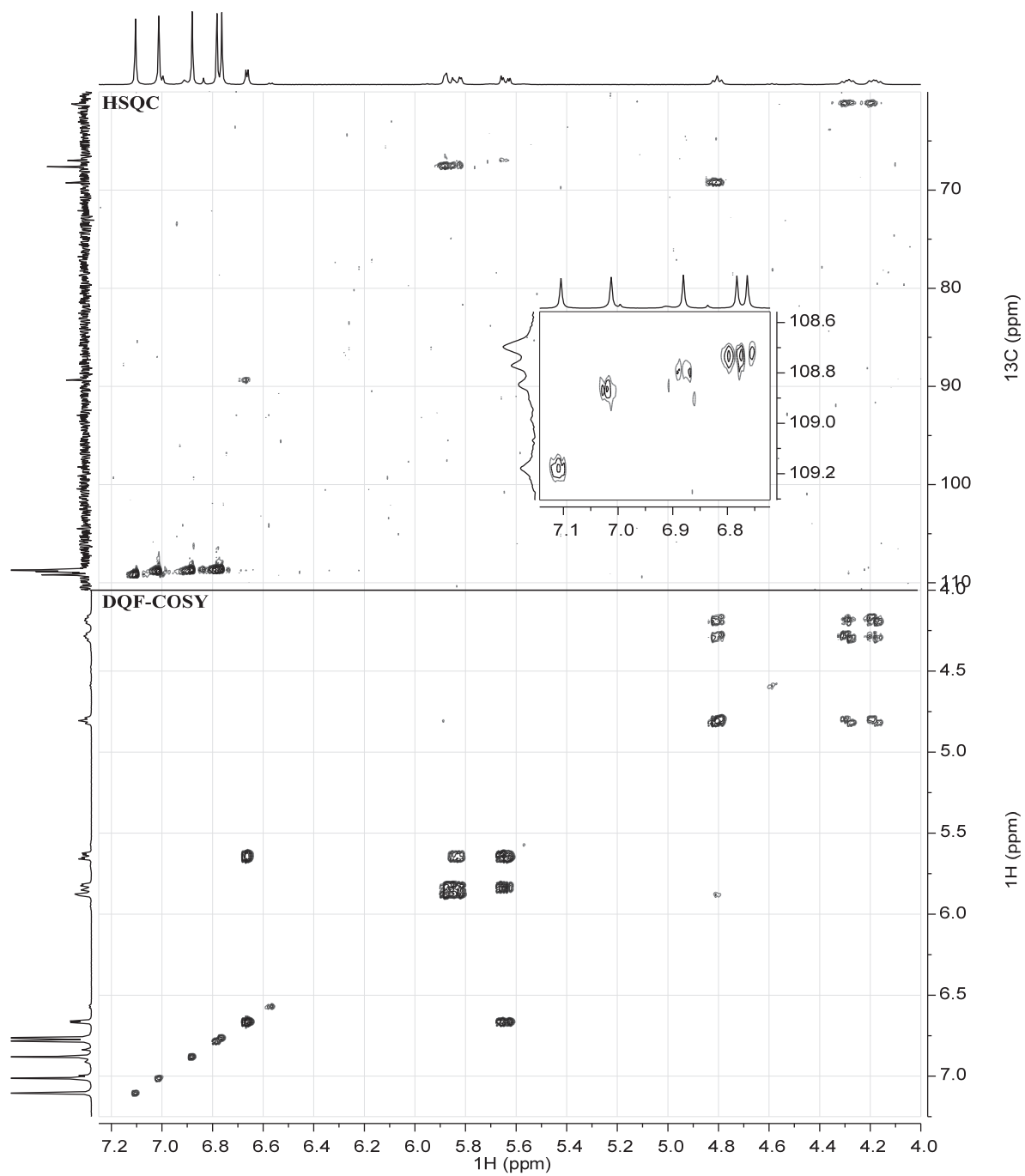


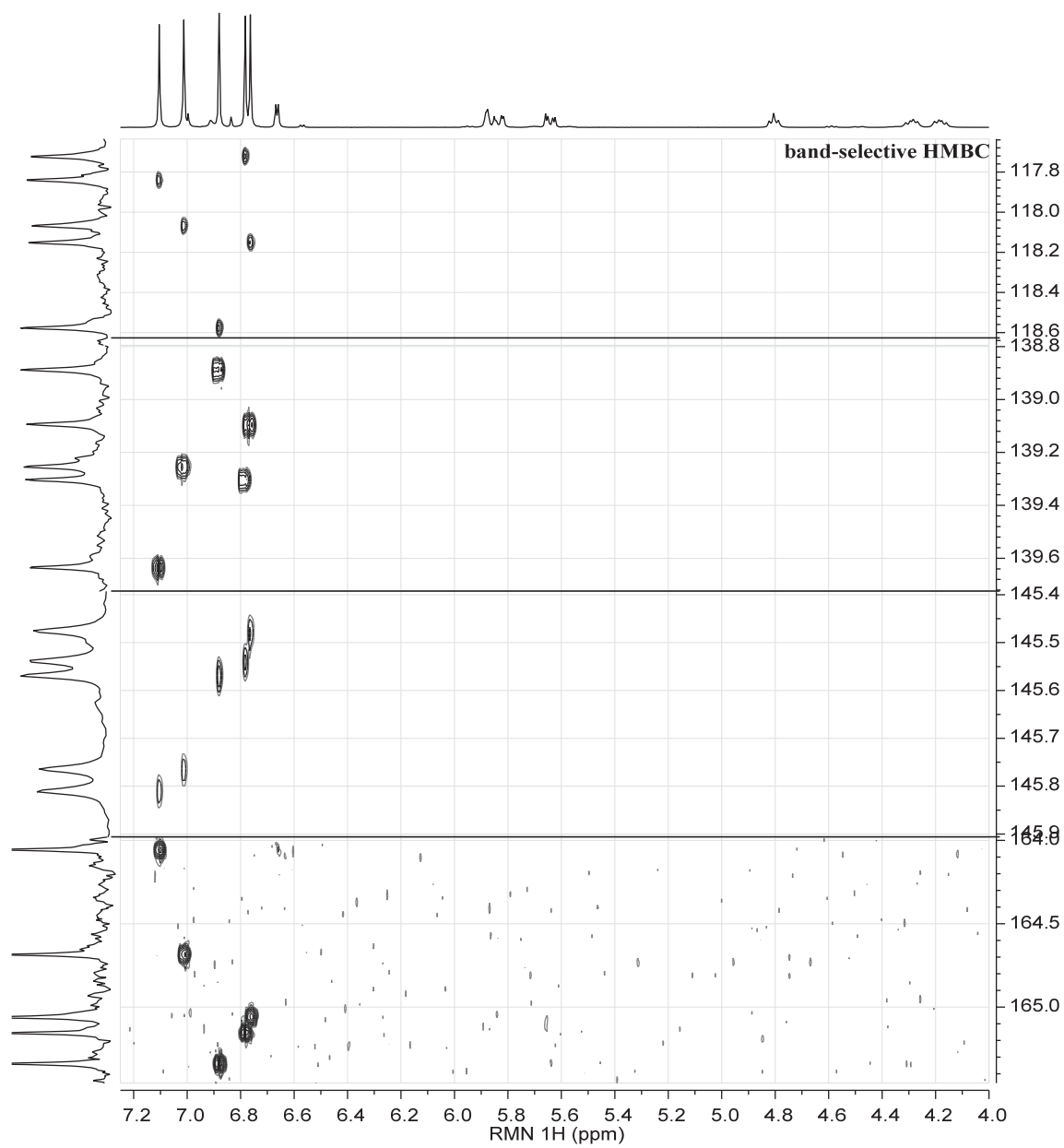
2D NMR spectra of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- α -D-mannopyranoside (1112)

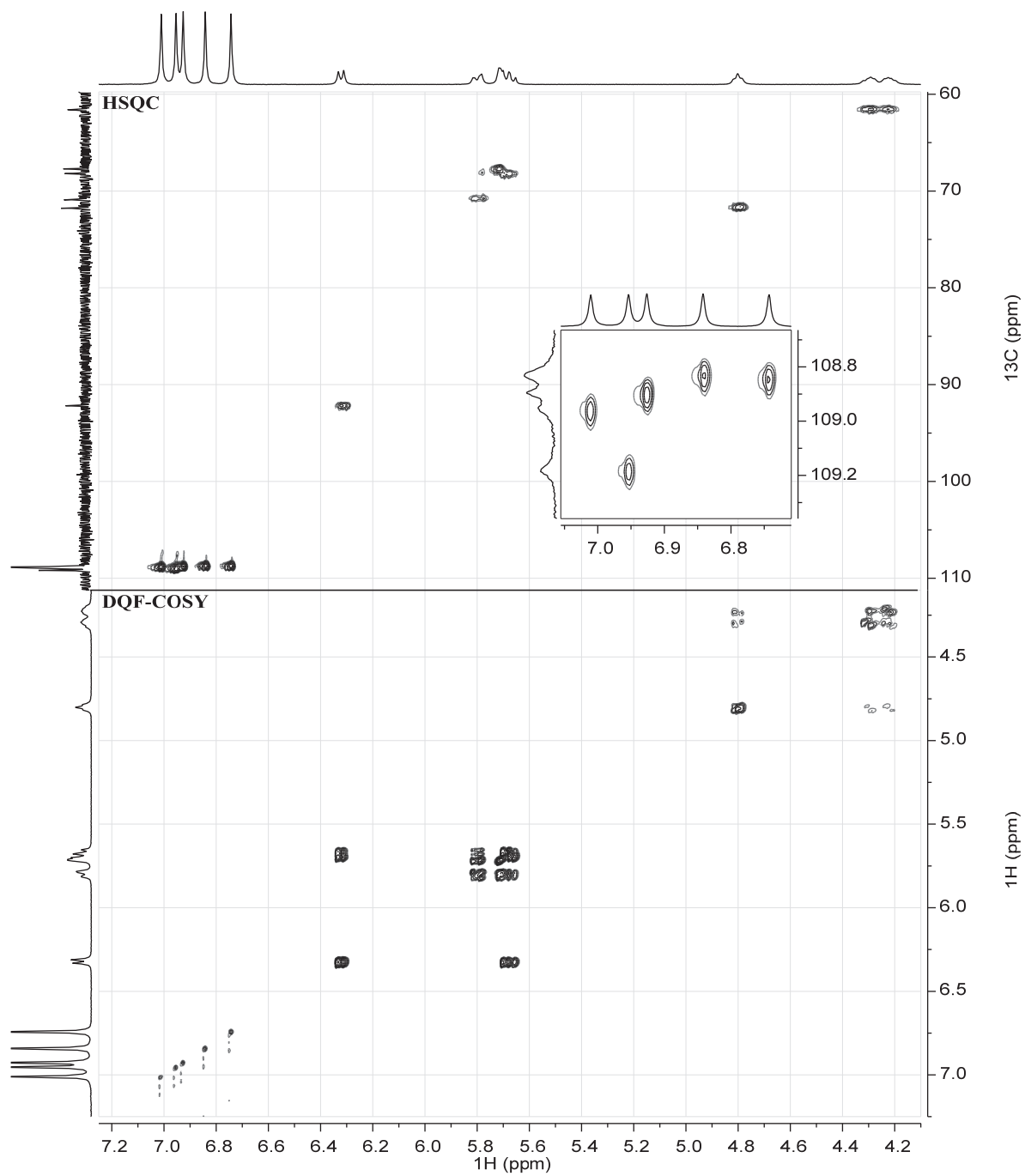


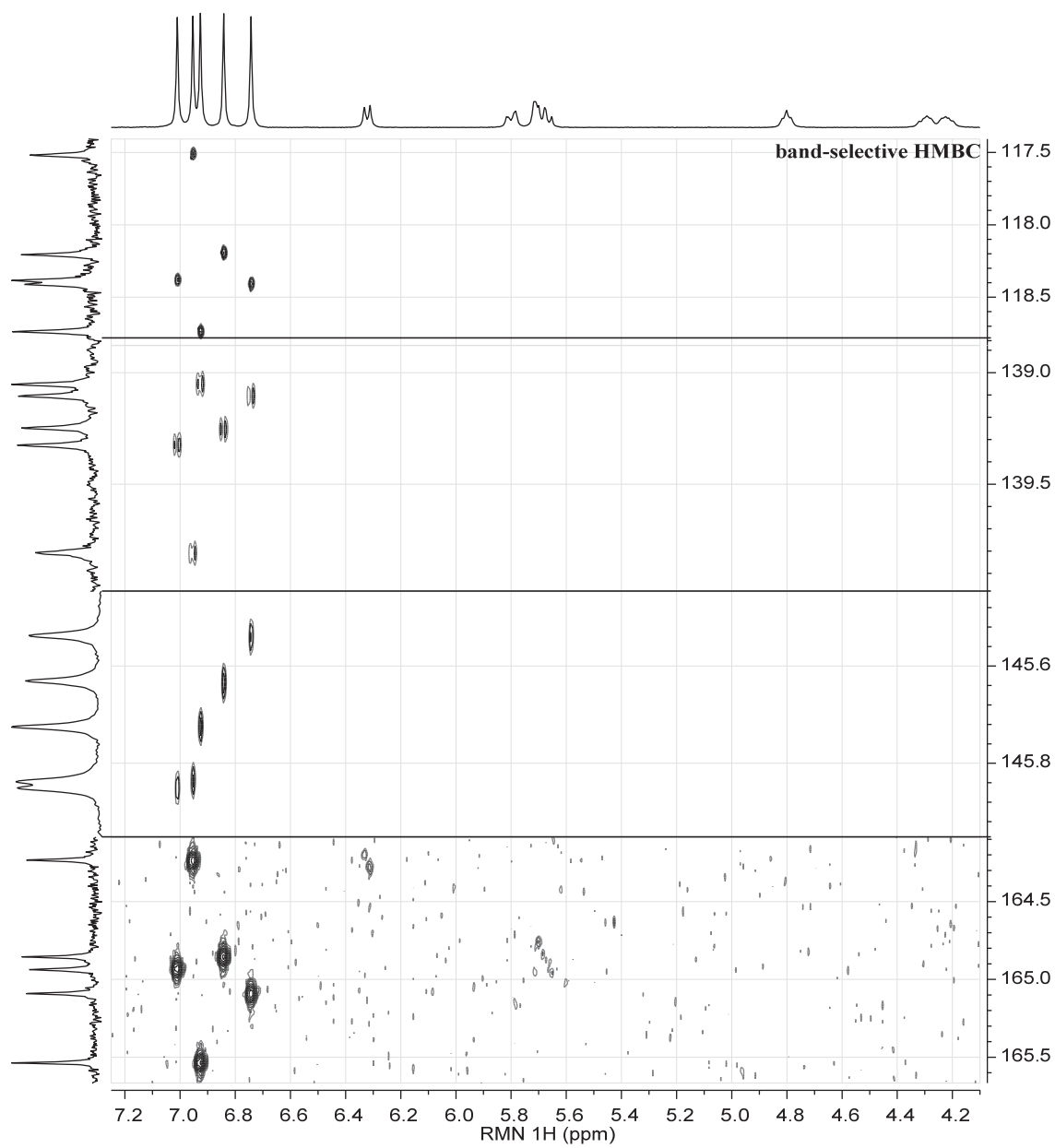
2D NMR spectra of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-mannopyranoside (1113)

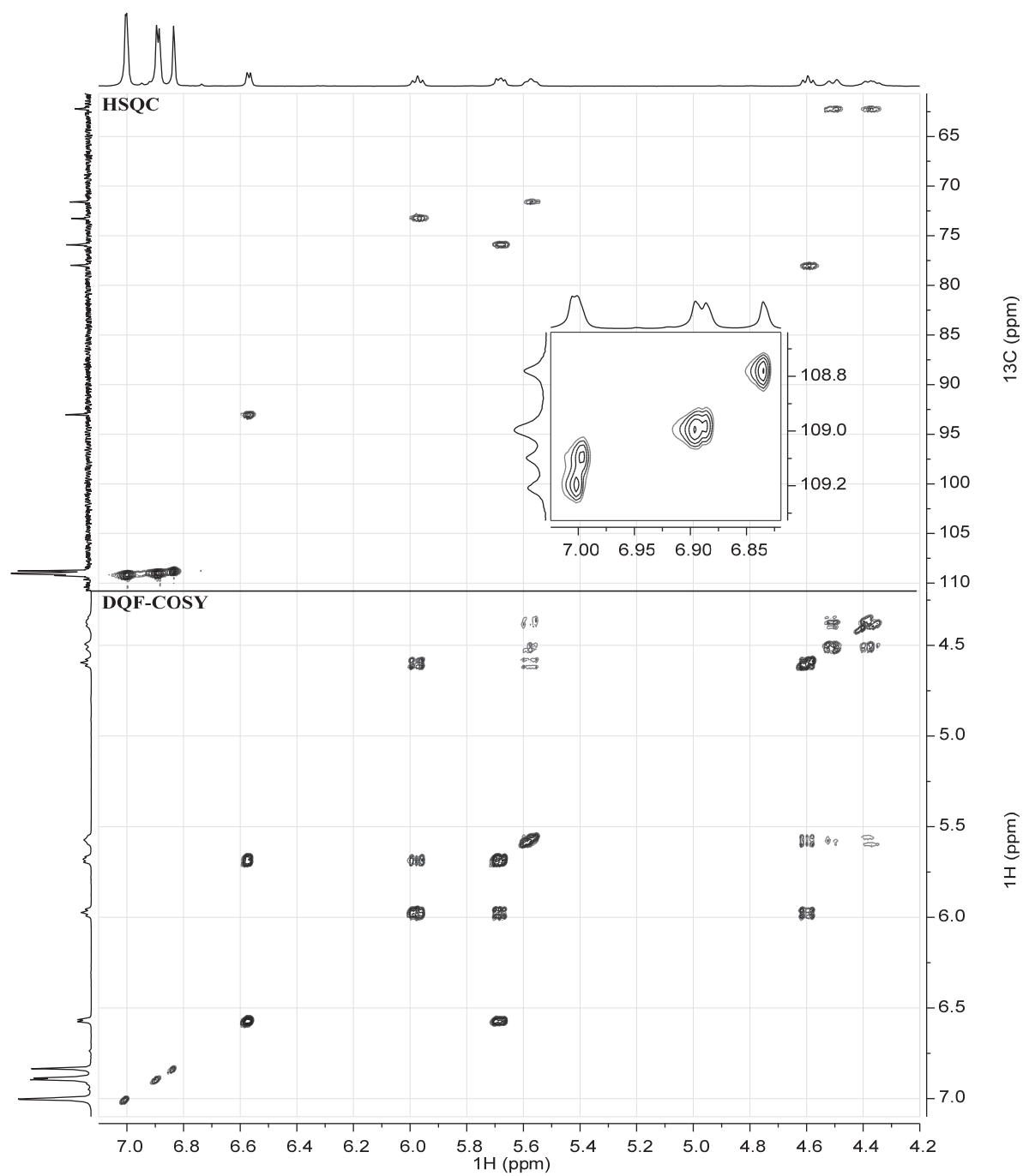


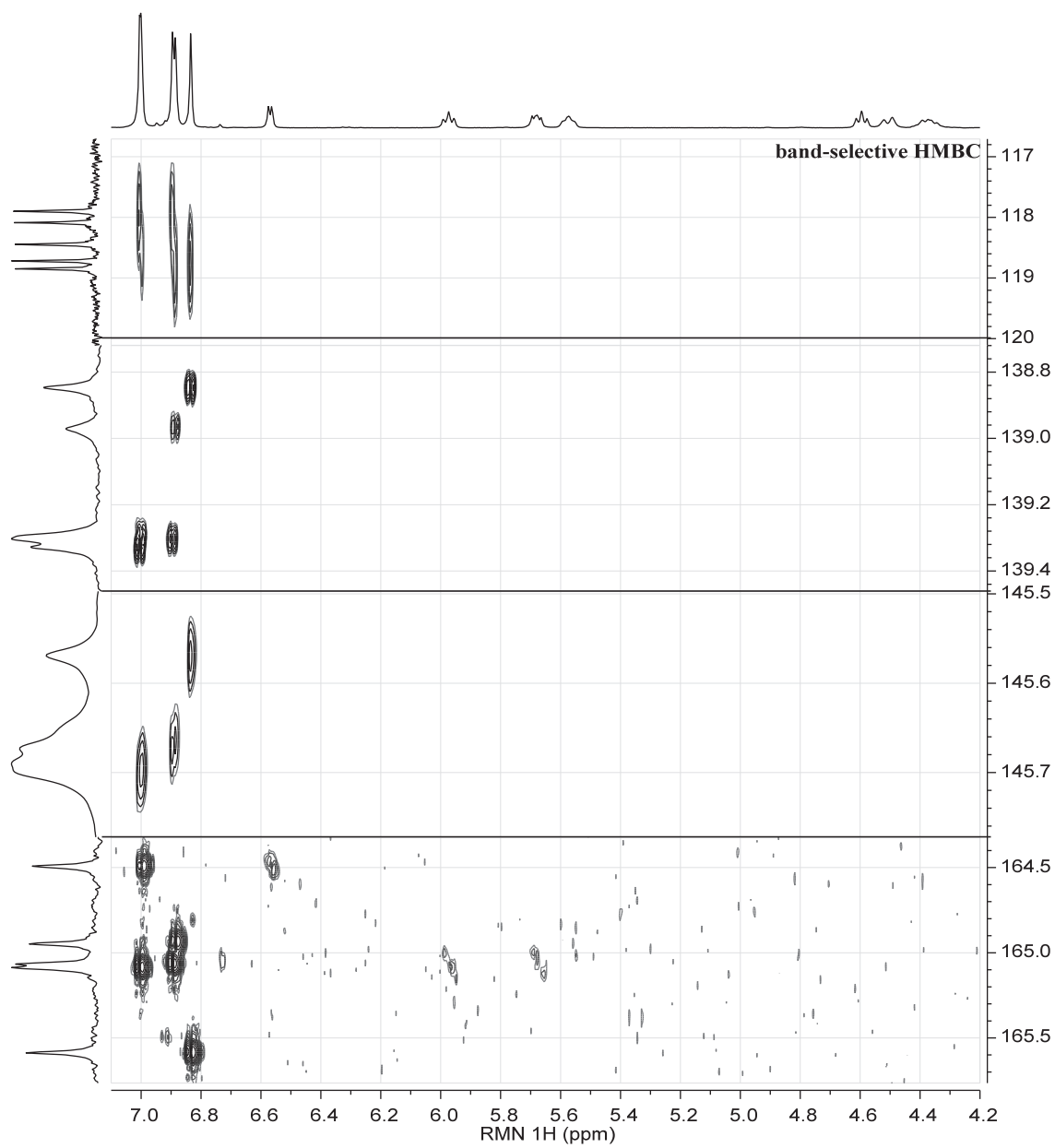
2D NMR spectra of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- α -D-galactopyranoside (1114)

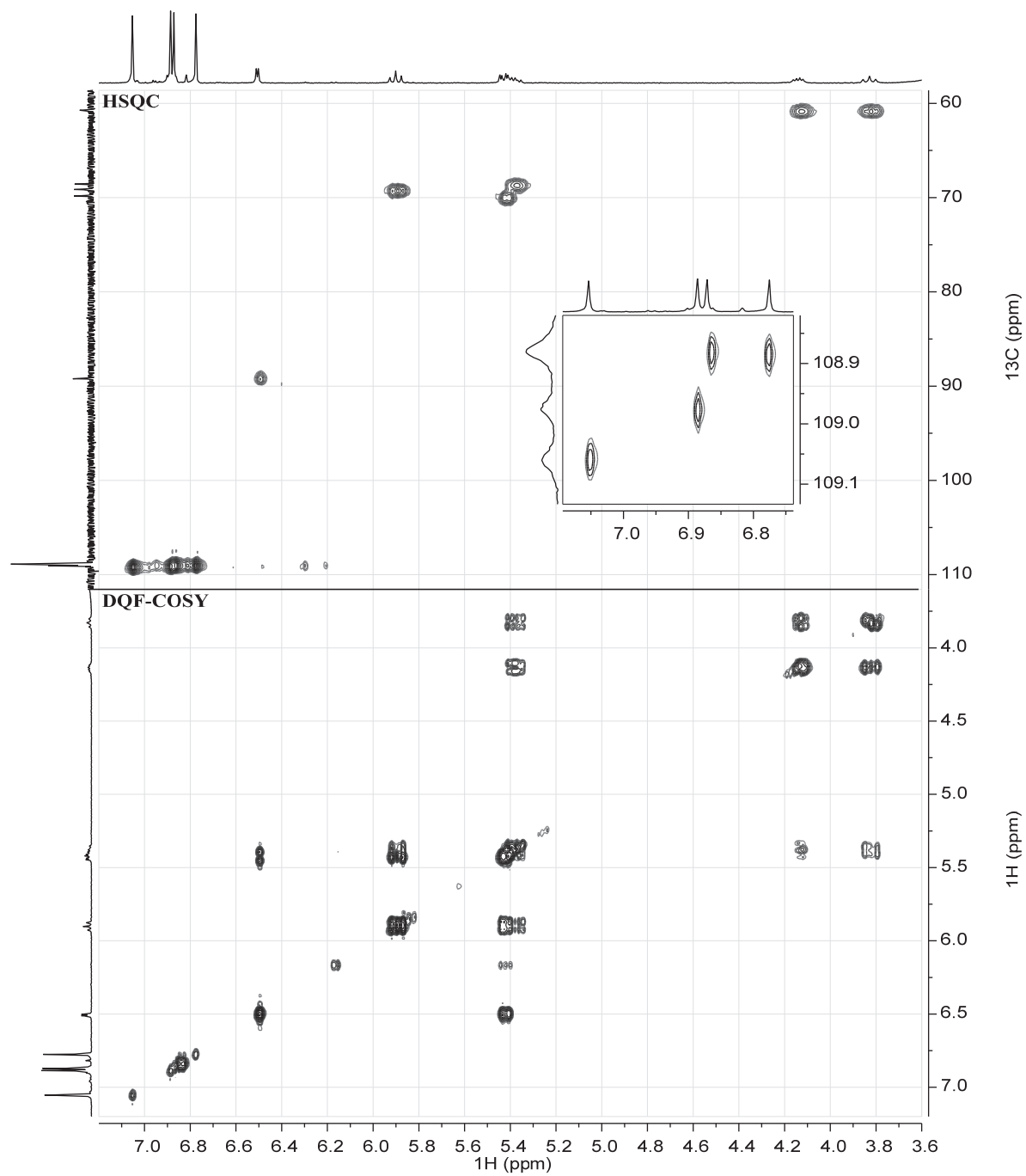


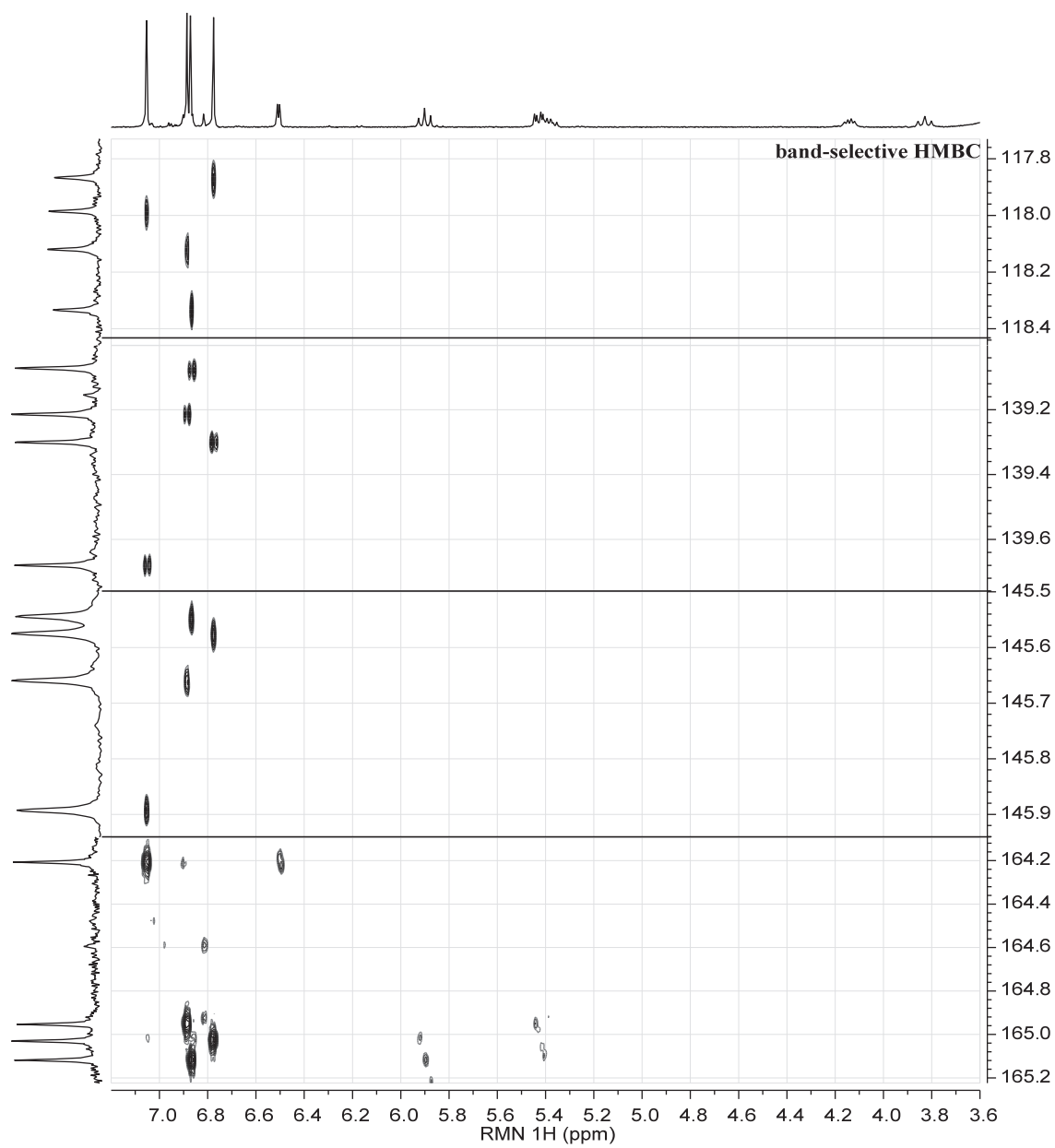
2D NMR spectra of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-galactopyranoside (1115)

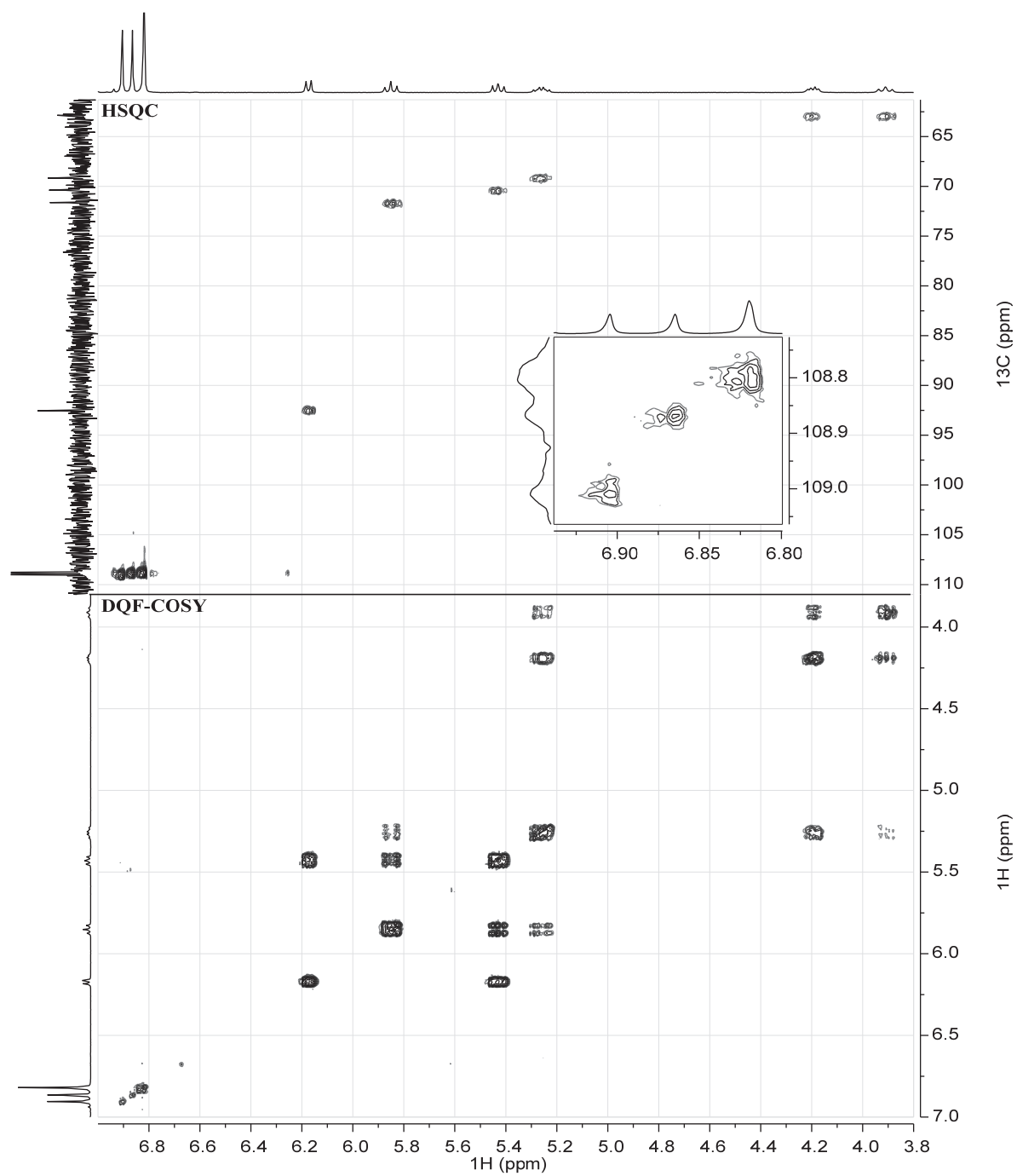


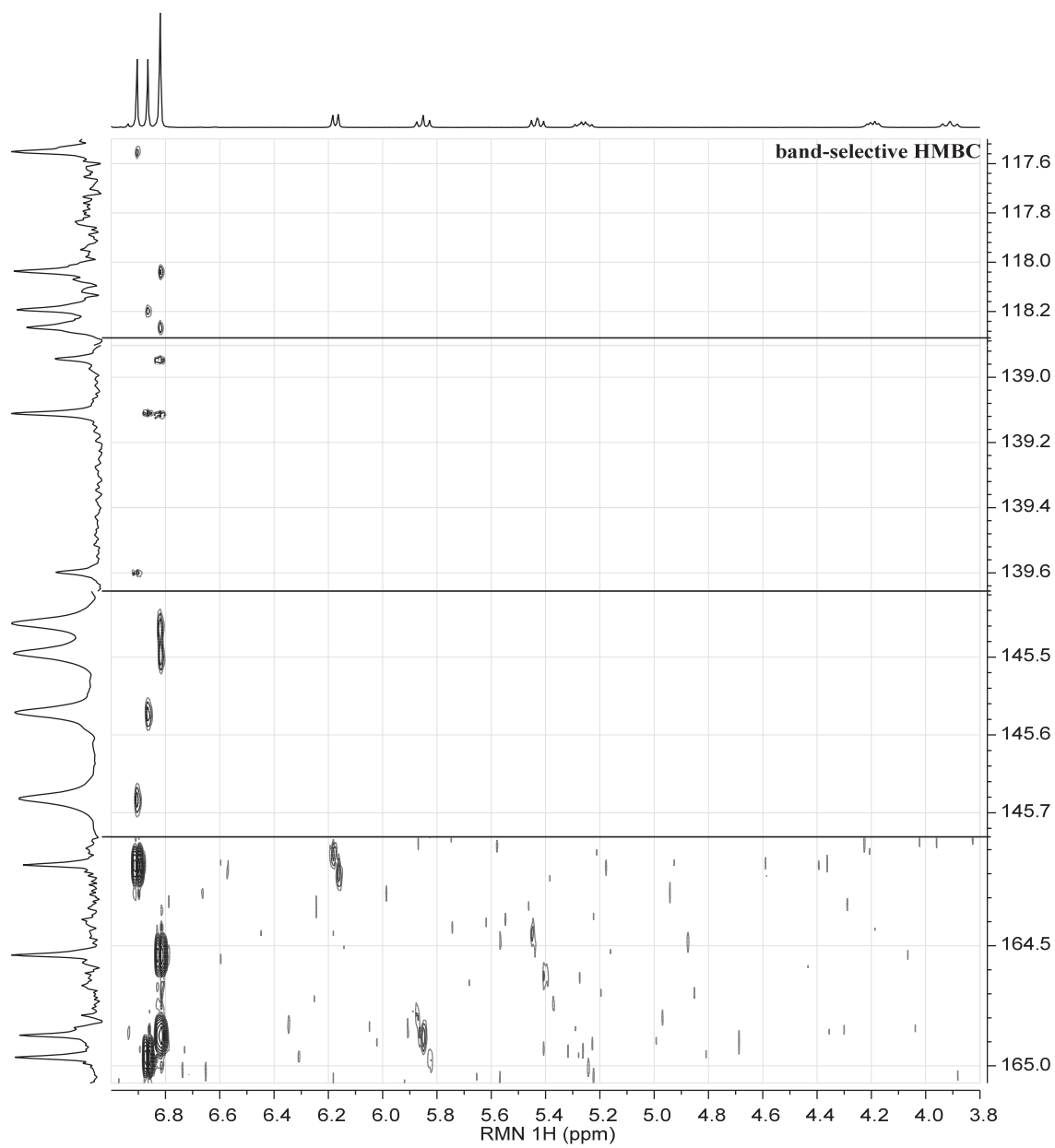
2D NMR spectra of 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-galactofuranoside (1116)

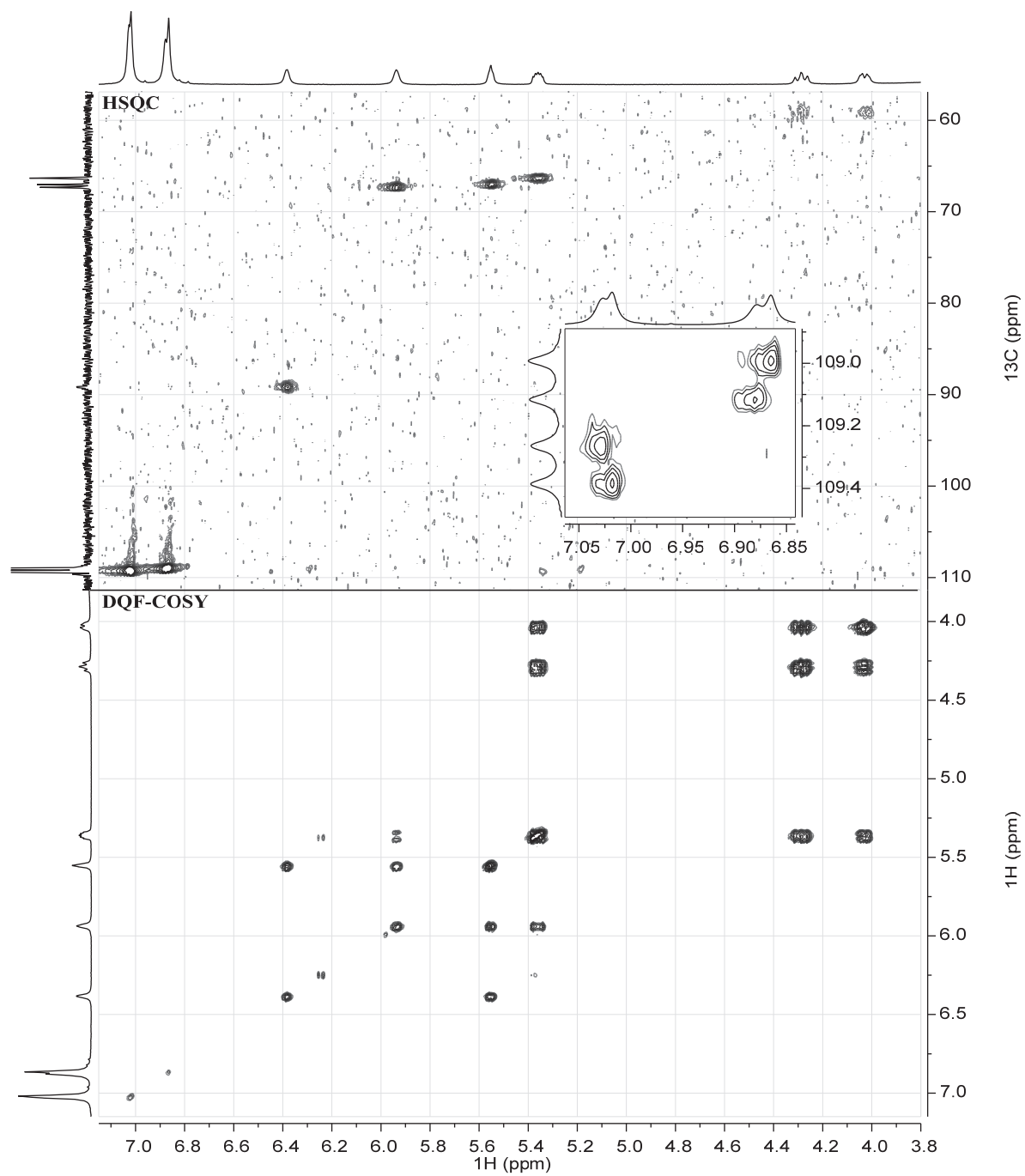


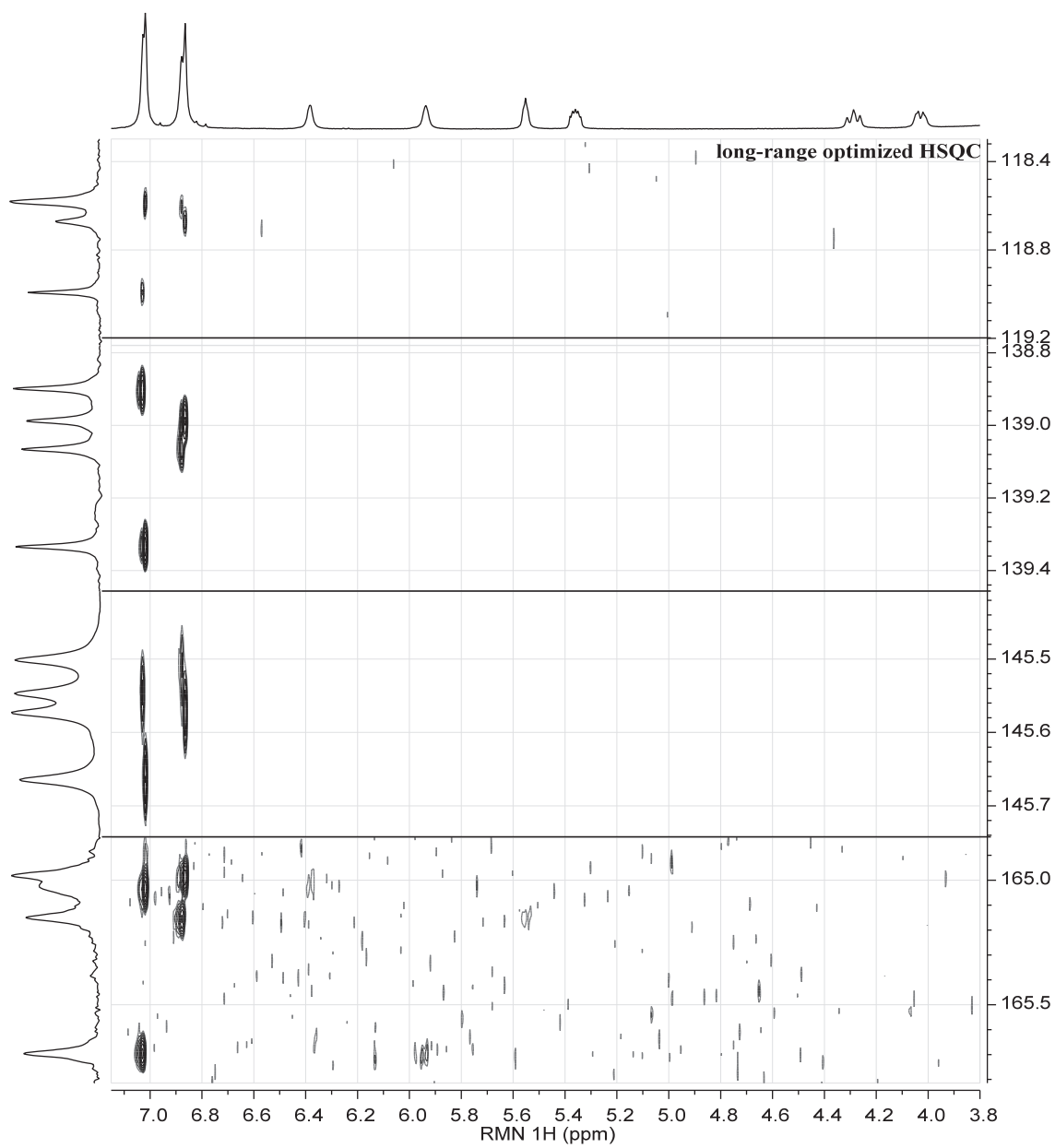
2D NMR spectra of 1,2,3,4-tetra-*O*-galloyl- α -D-xylopyranoside (**1117**)

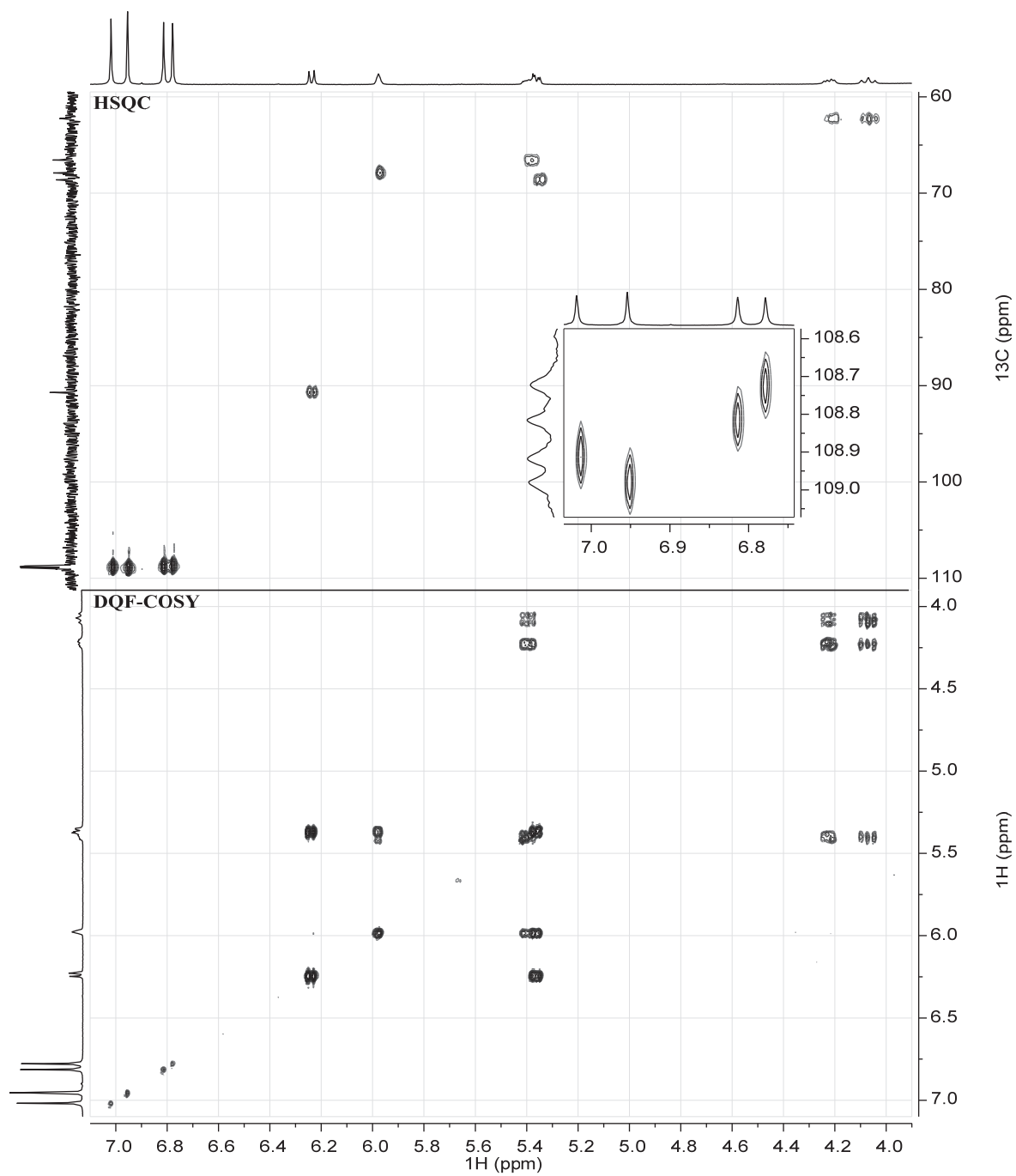


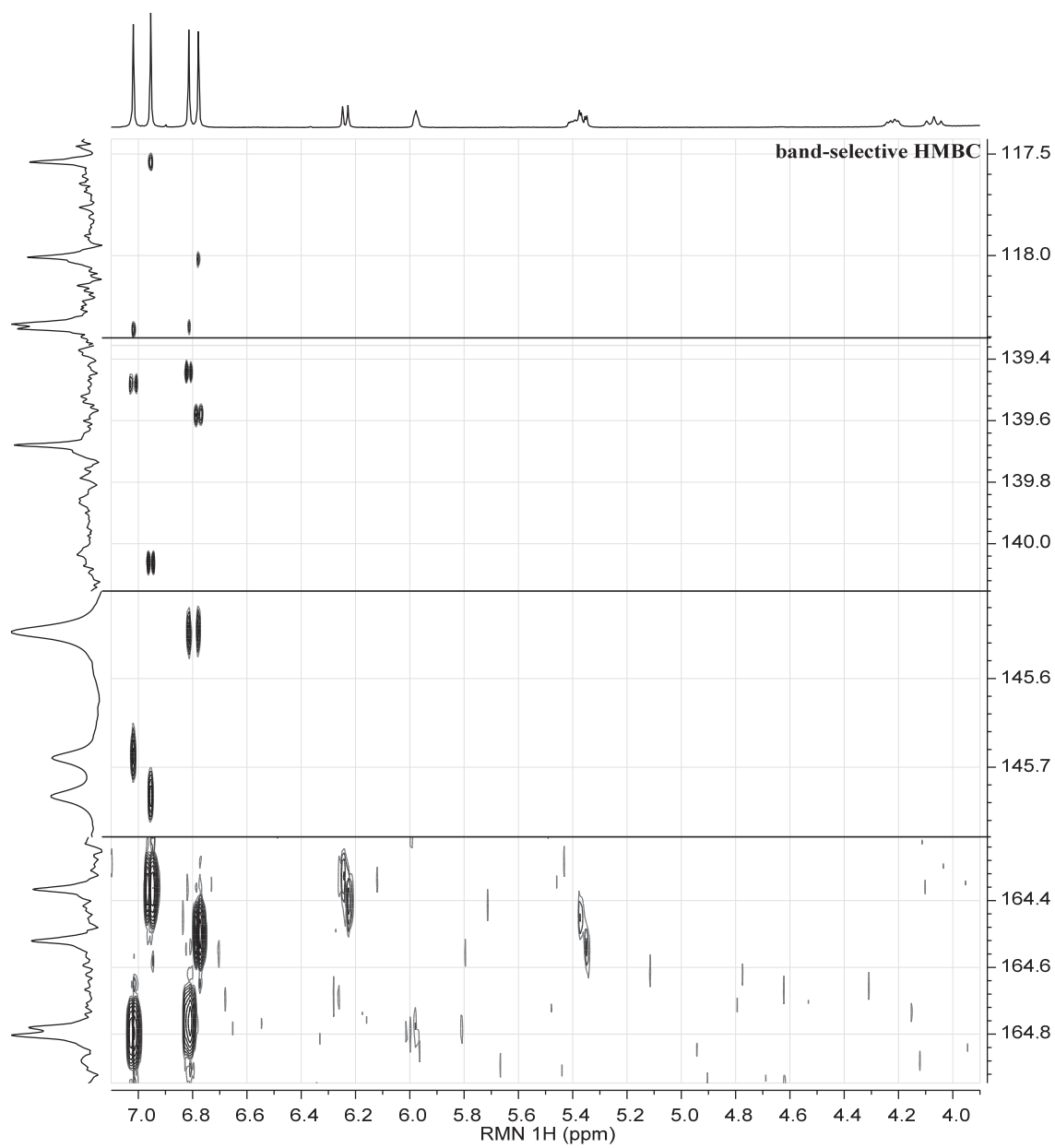
2D NMR spectra of 1,2,3,4-tetra-*O*-galloyl- β -D-xylopyranoside (**1118**)

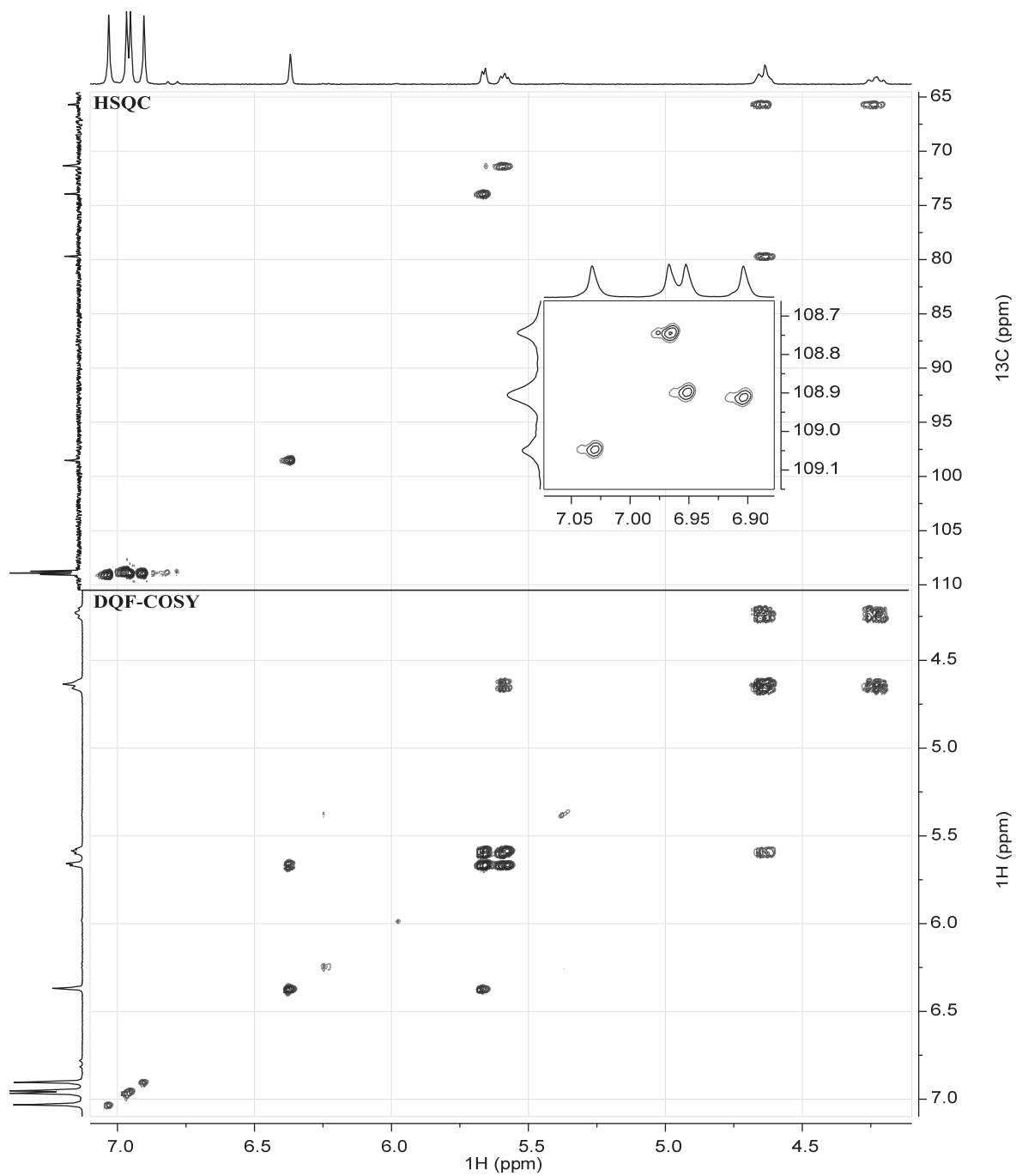


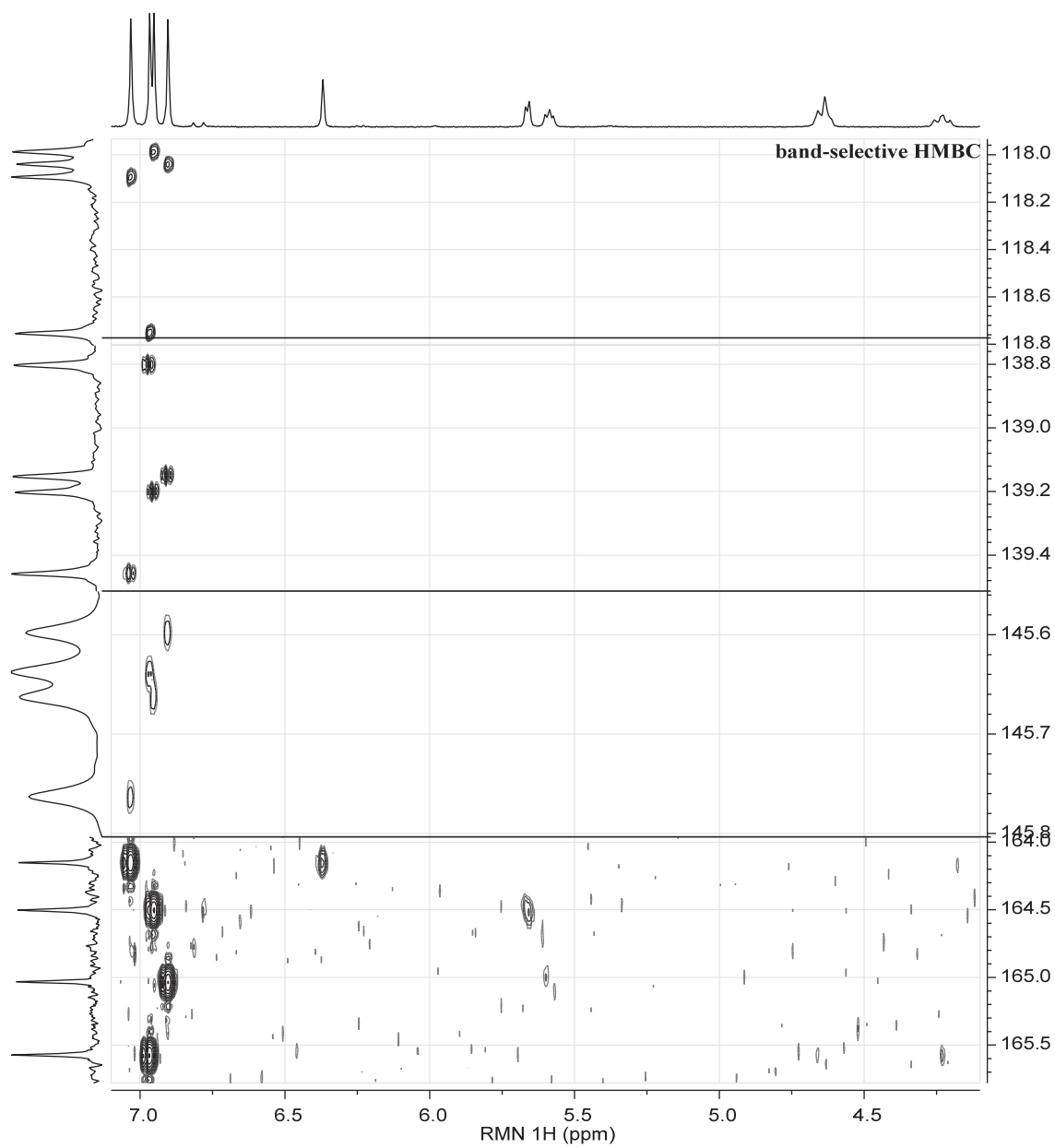
2D NMR spectra of 1,2,3,4-tetra-*O*-galloyl- α -L-ribose (1119)

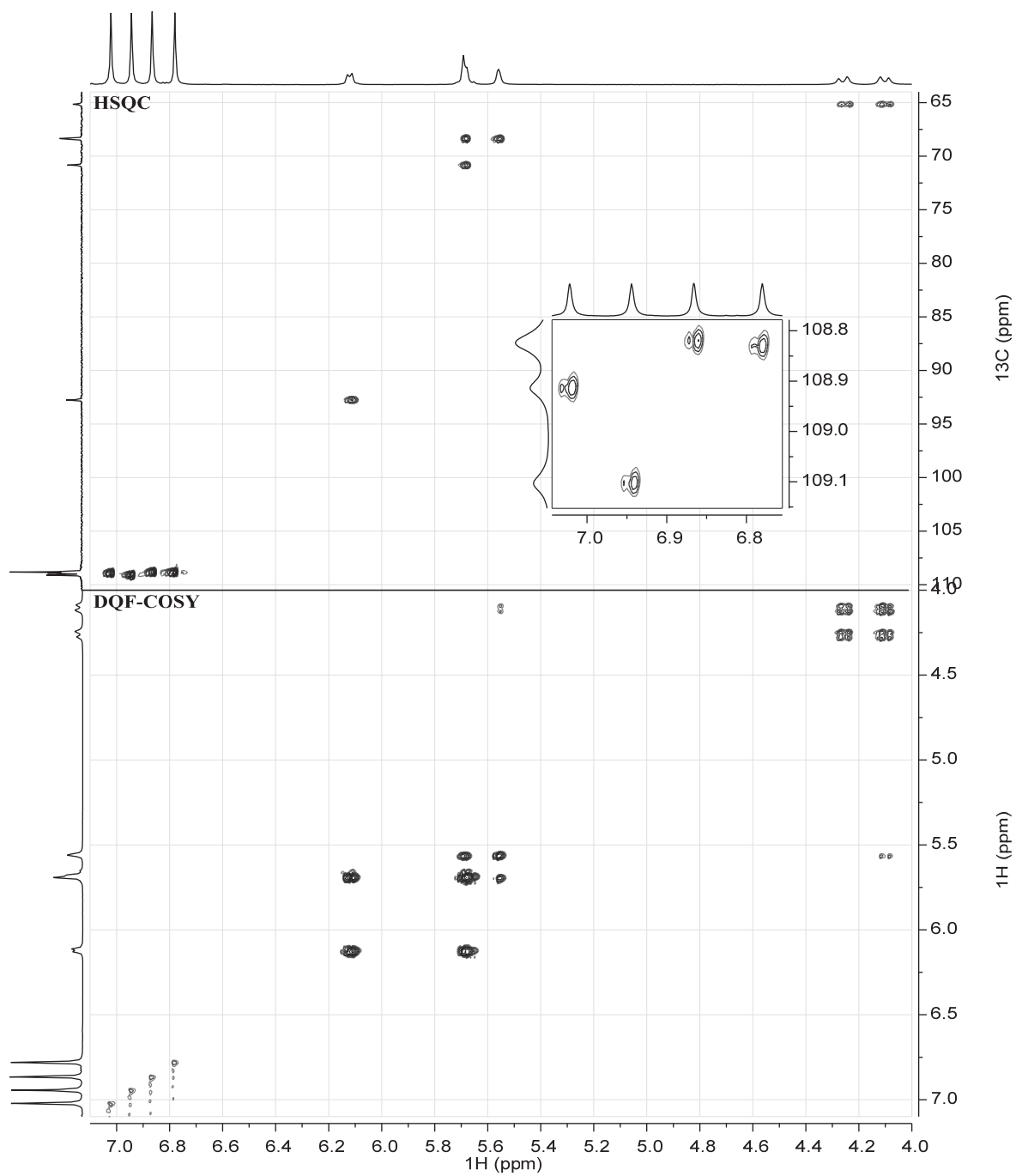


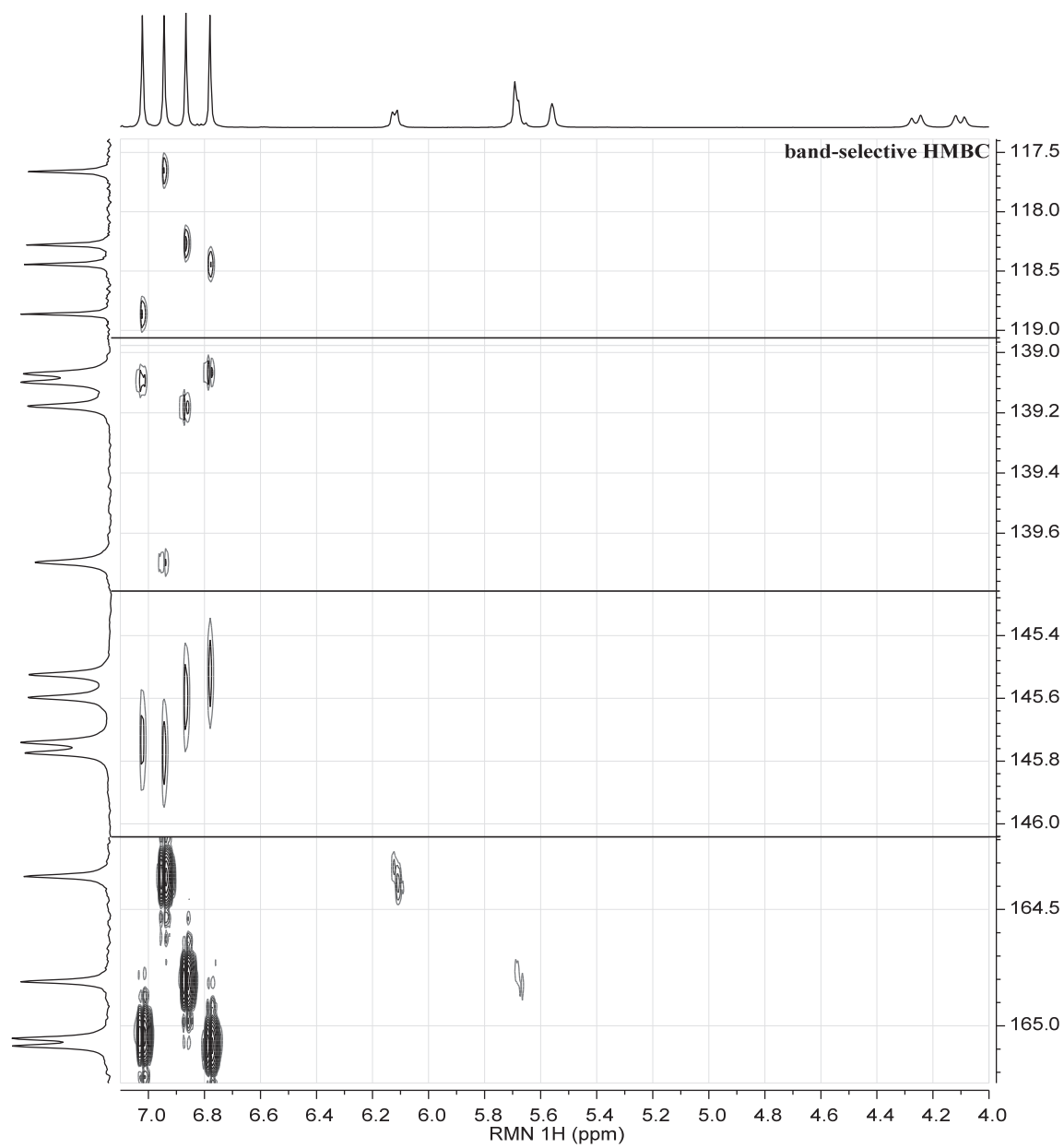
2D NMR spectra of 1,2,3,4-tetra-*O*-galloyl- β -L-ribose (1120)

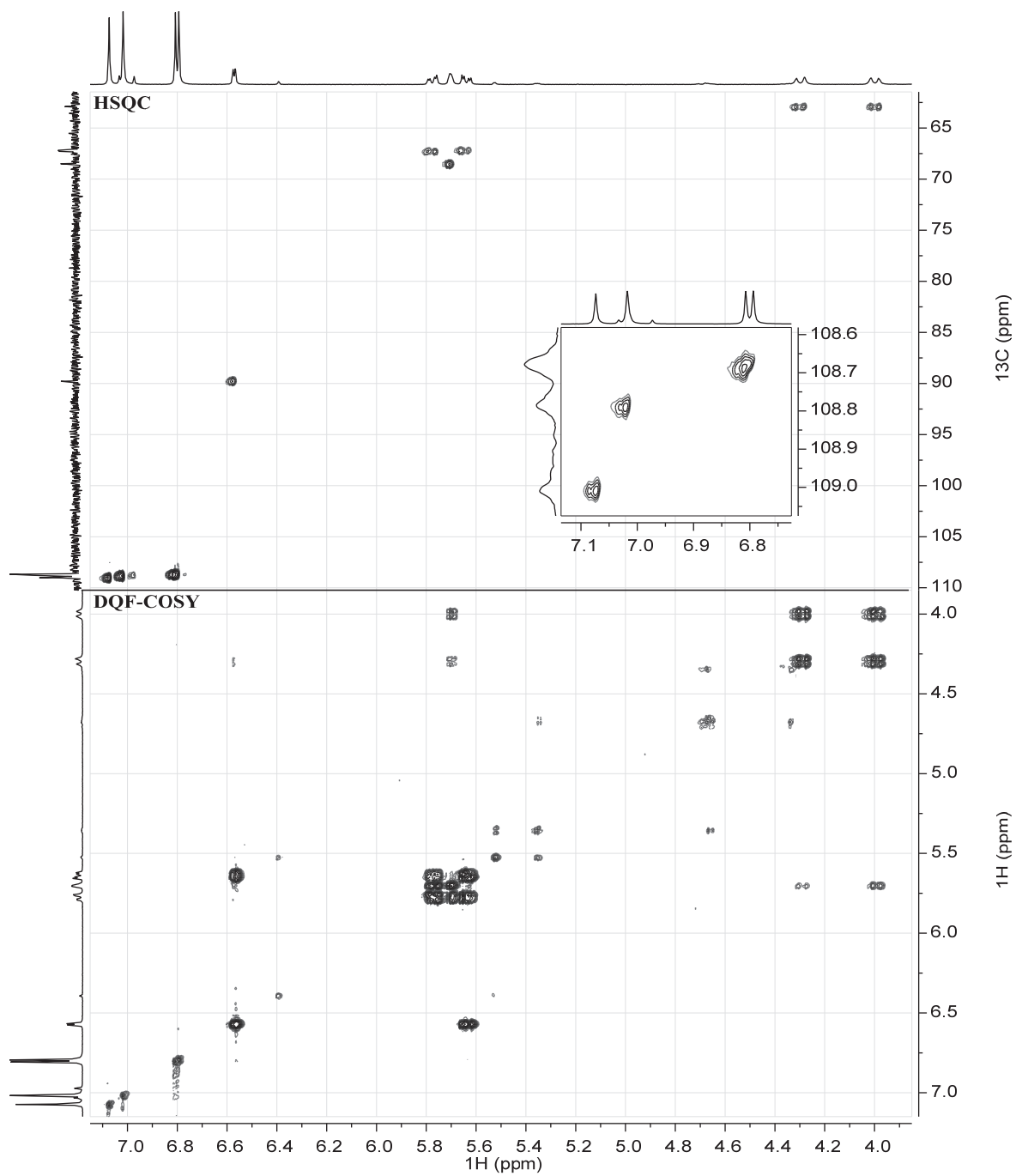


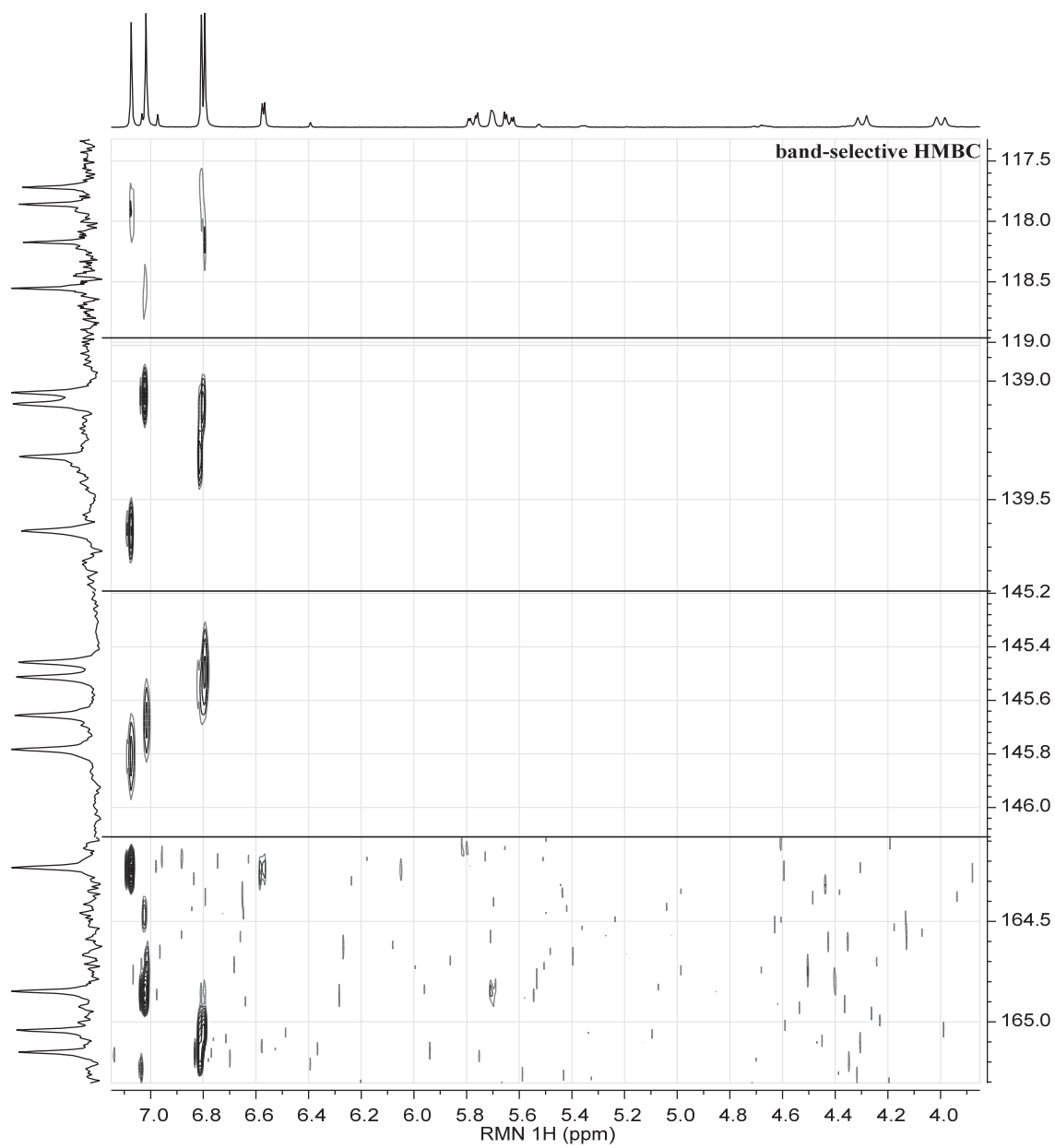
2D NMR spectra of 1,2,3,4-tetra-*O*-galloyl- β -L-ribofuranoside (**1121**)

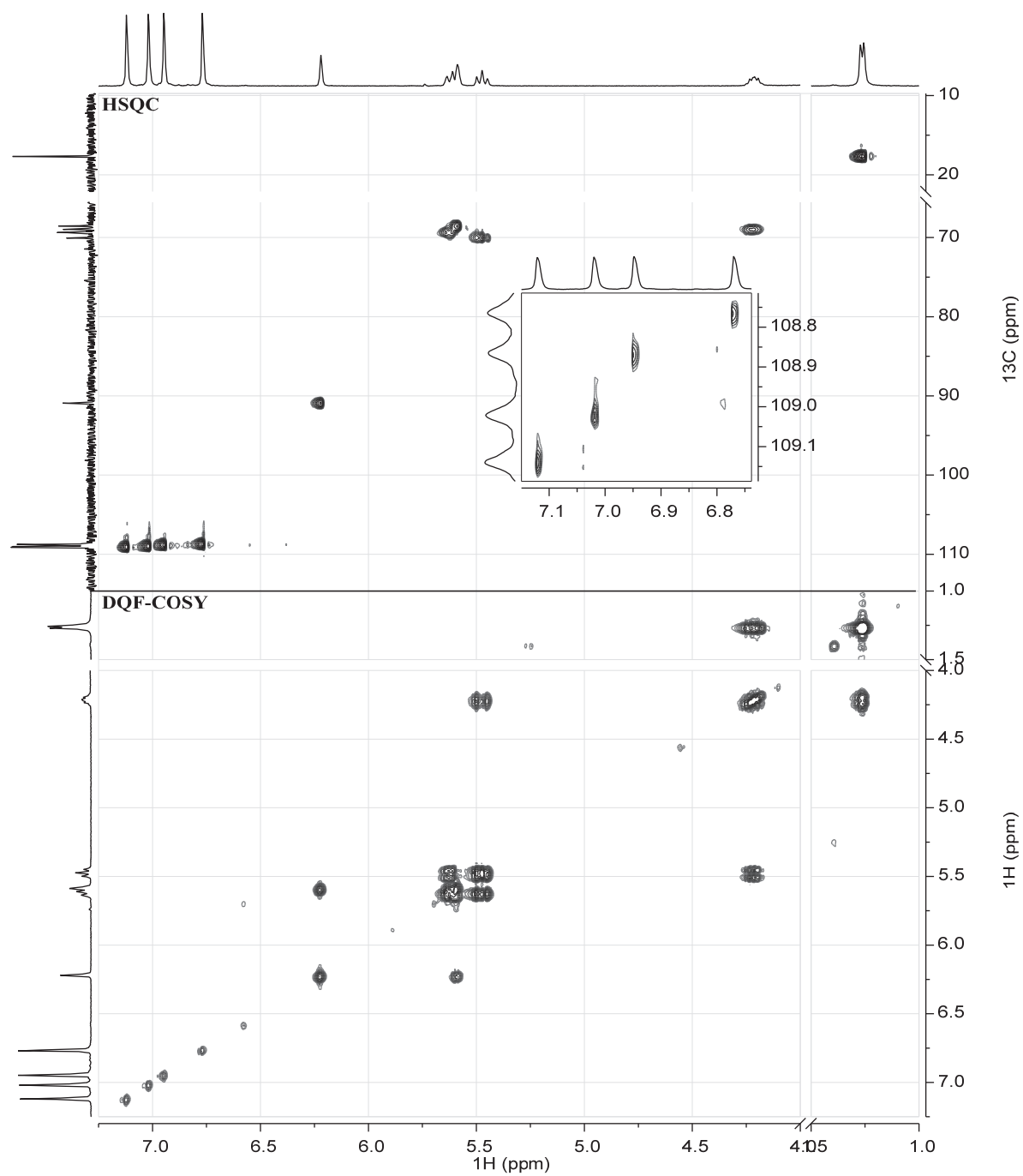


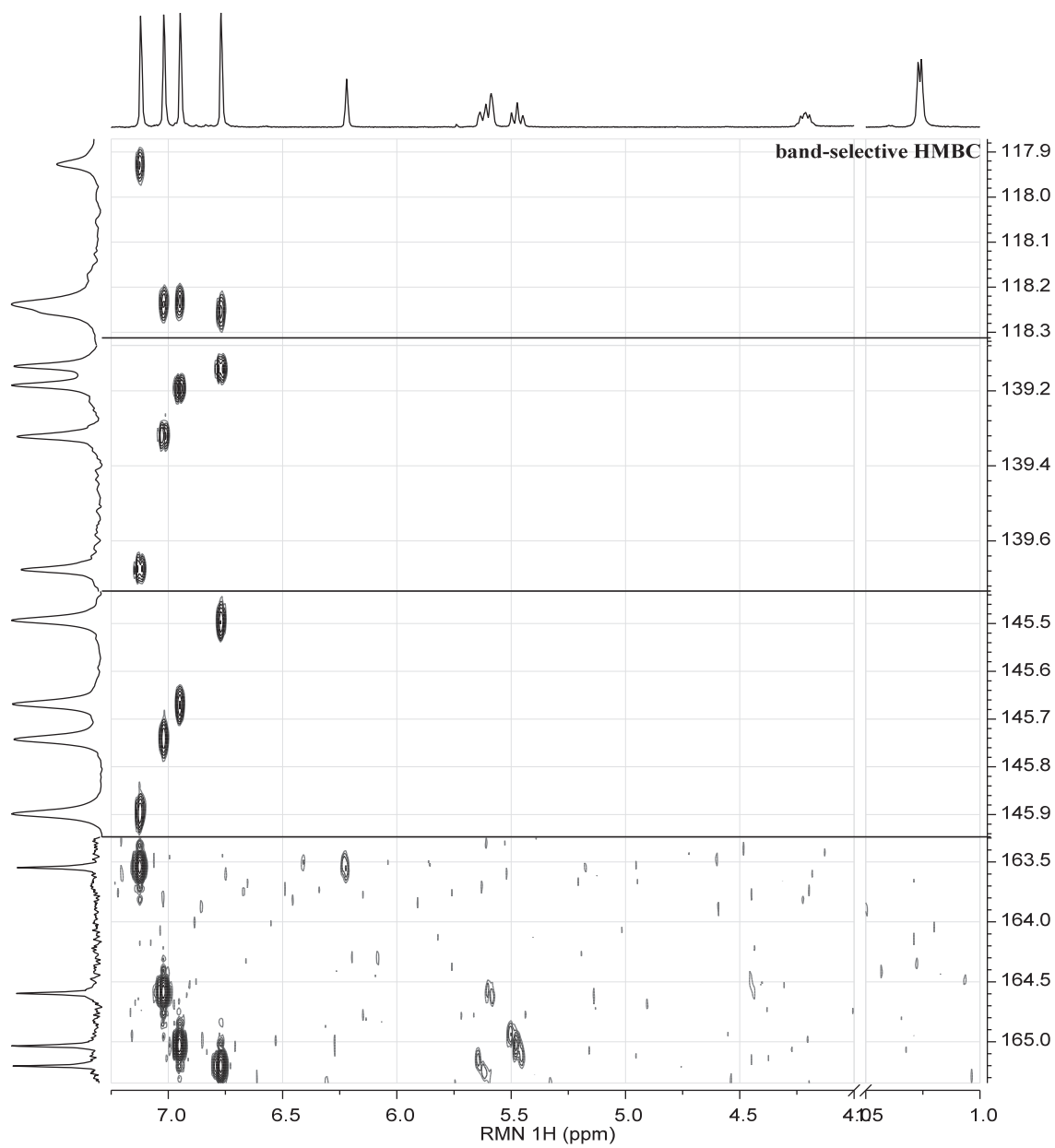
2D NMR spectra of 1,2,3,4-tetra-*O*-galloyl- α -L-arabinopyranoside (**1124**)

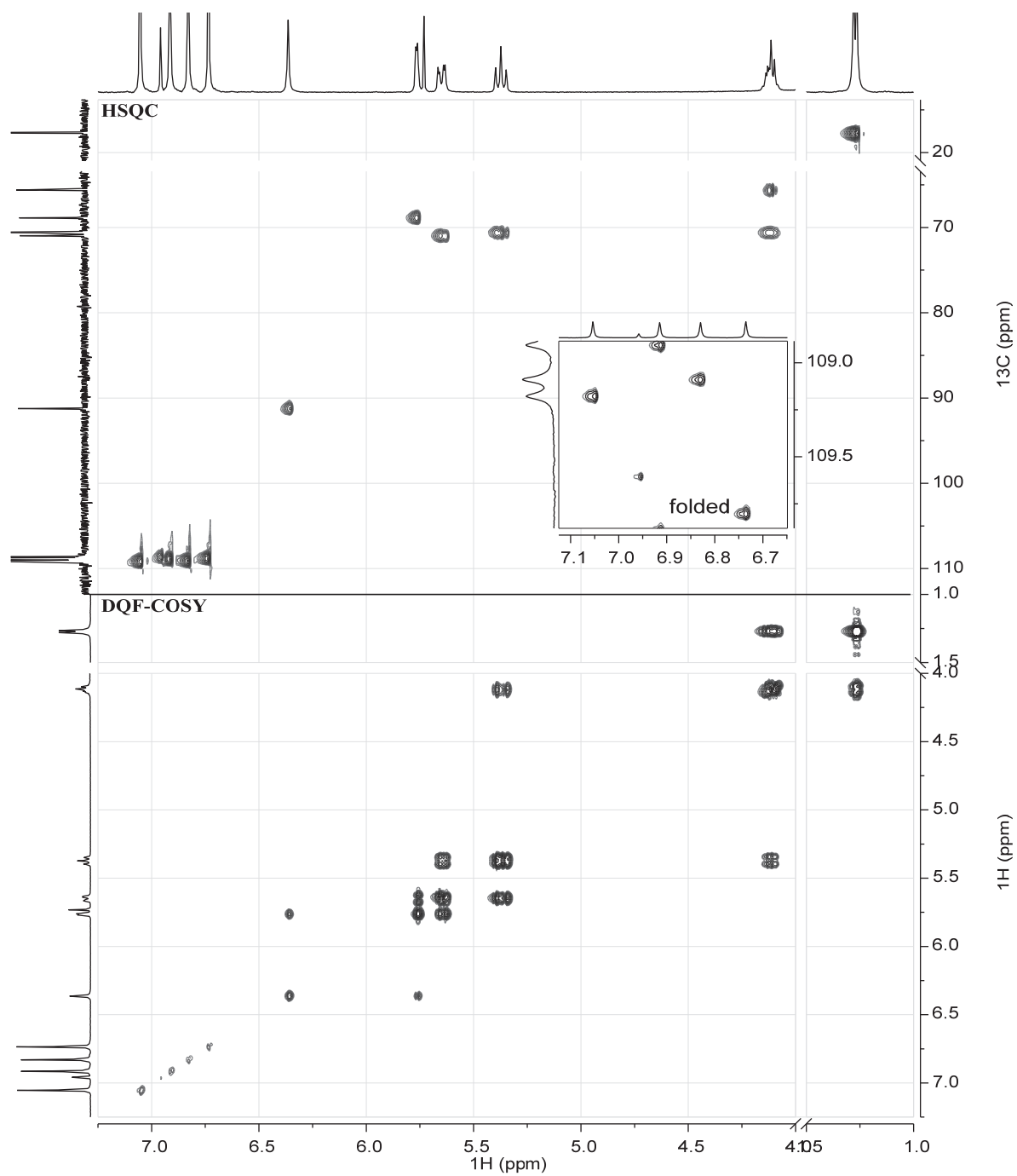


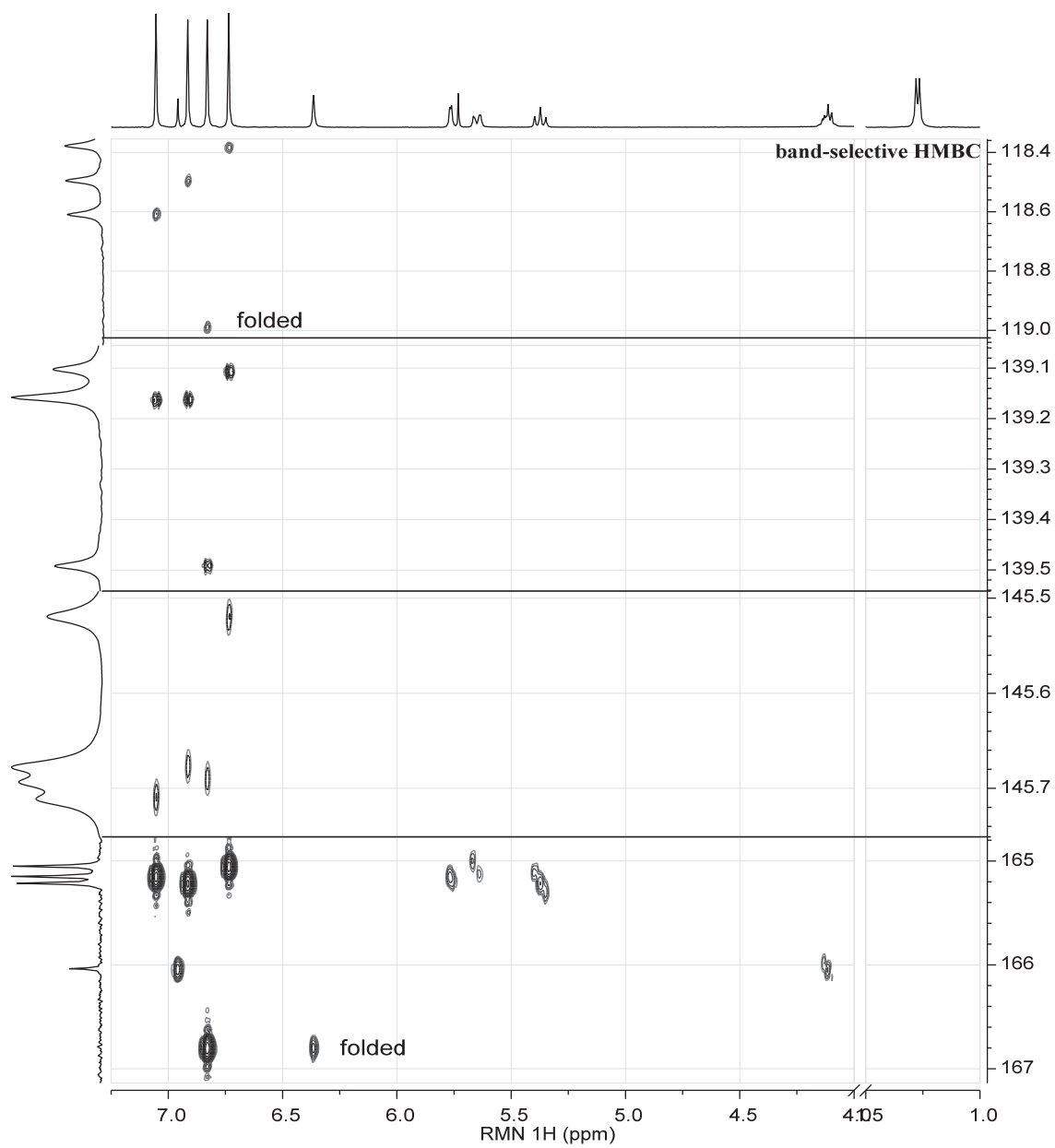
2D NMR spectra of 1,2,3,4-tetra-*O*-galloyl- β -L-arabinopyranoside (**1125**)

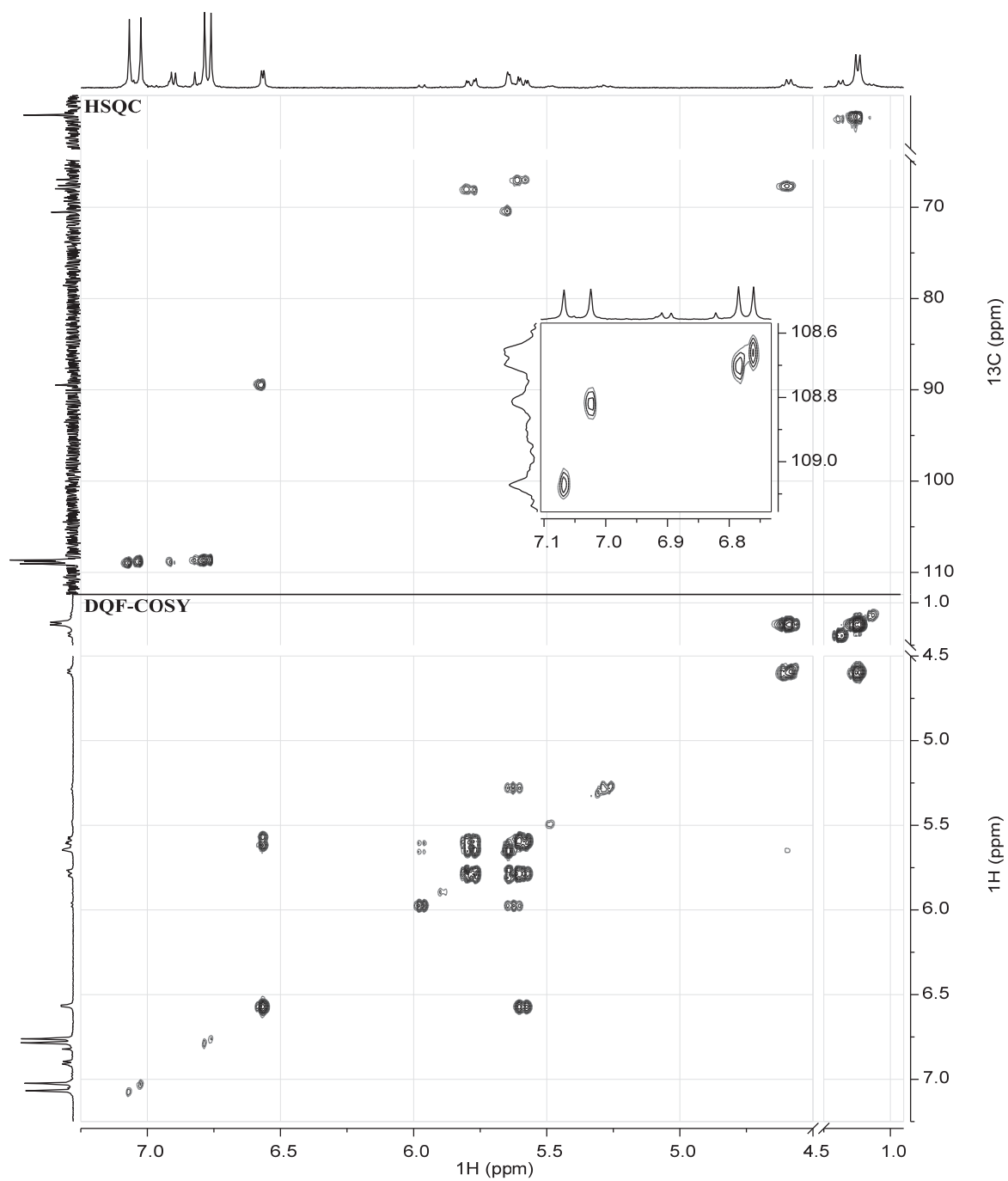


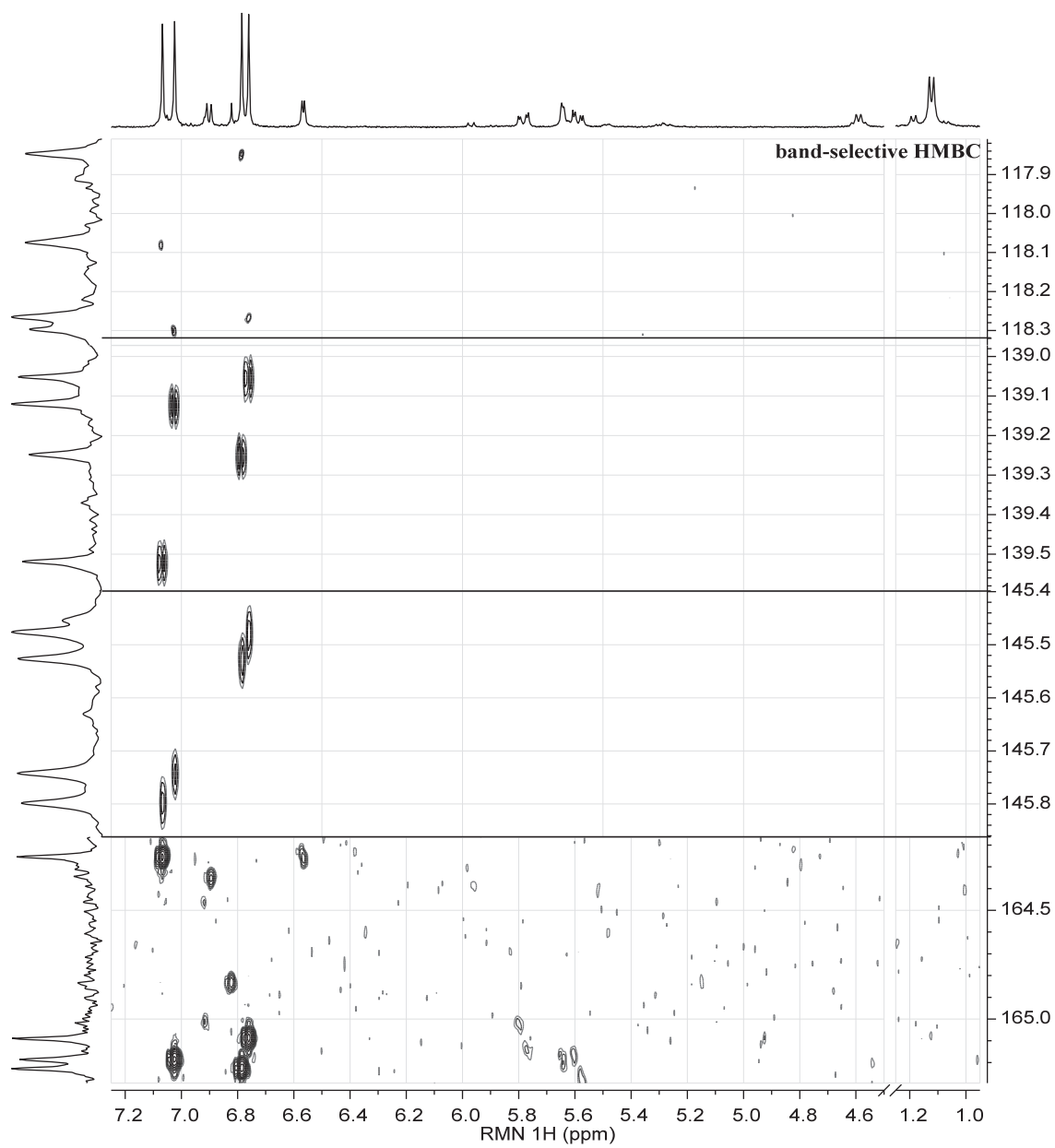
2D NMR spectra of 1,2,3,4-tetra-*O*-galloyl- α -L-rhamnopyranoside (1128)

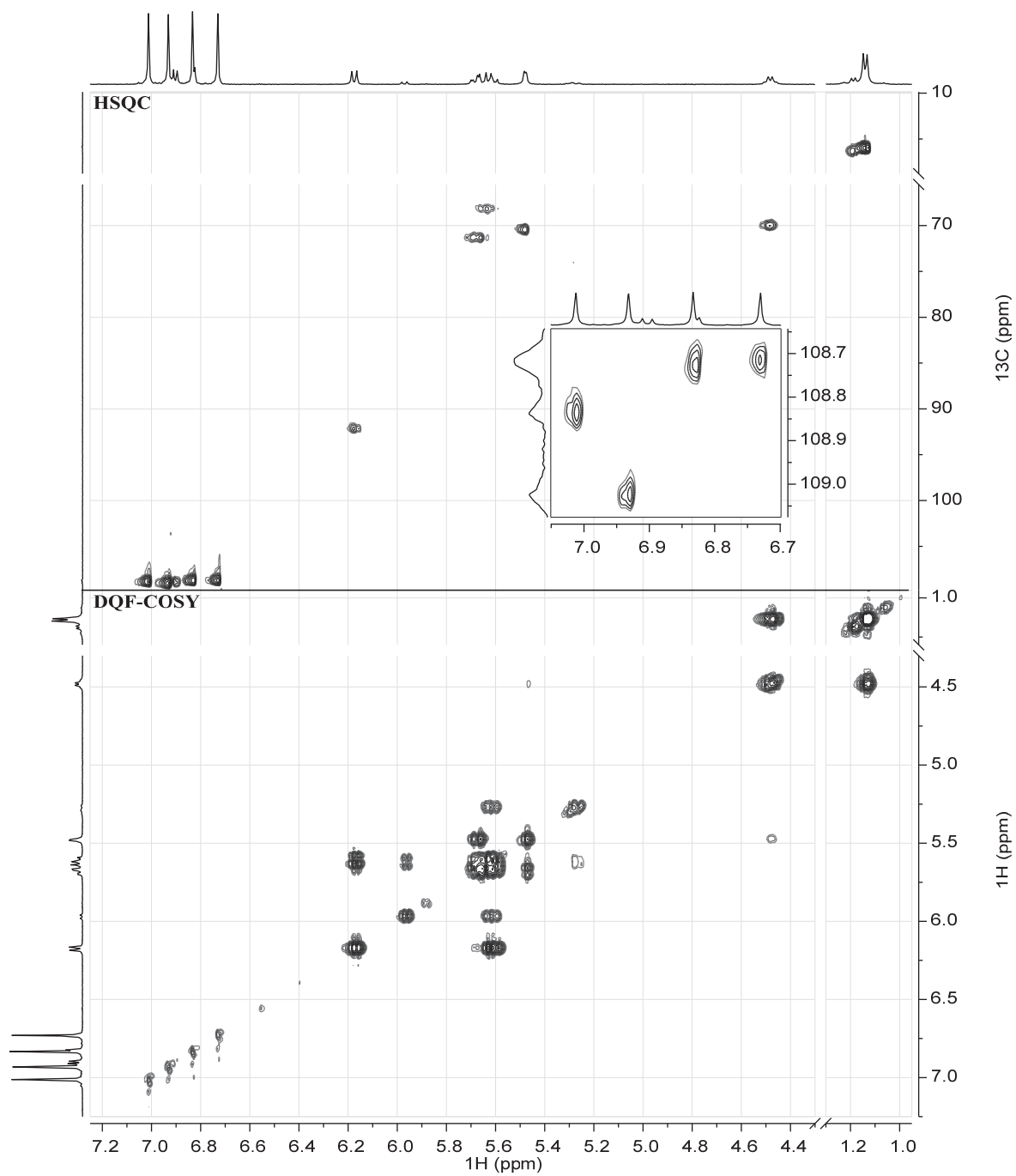


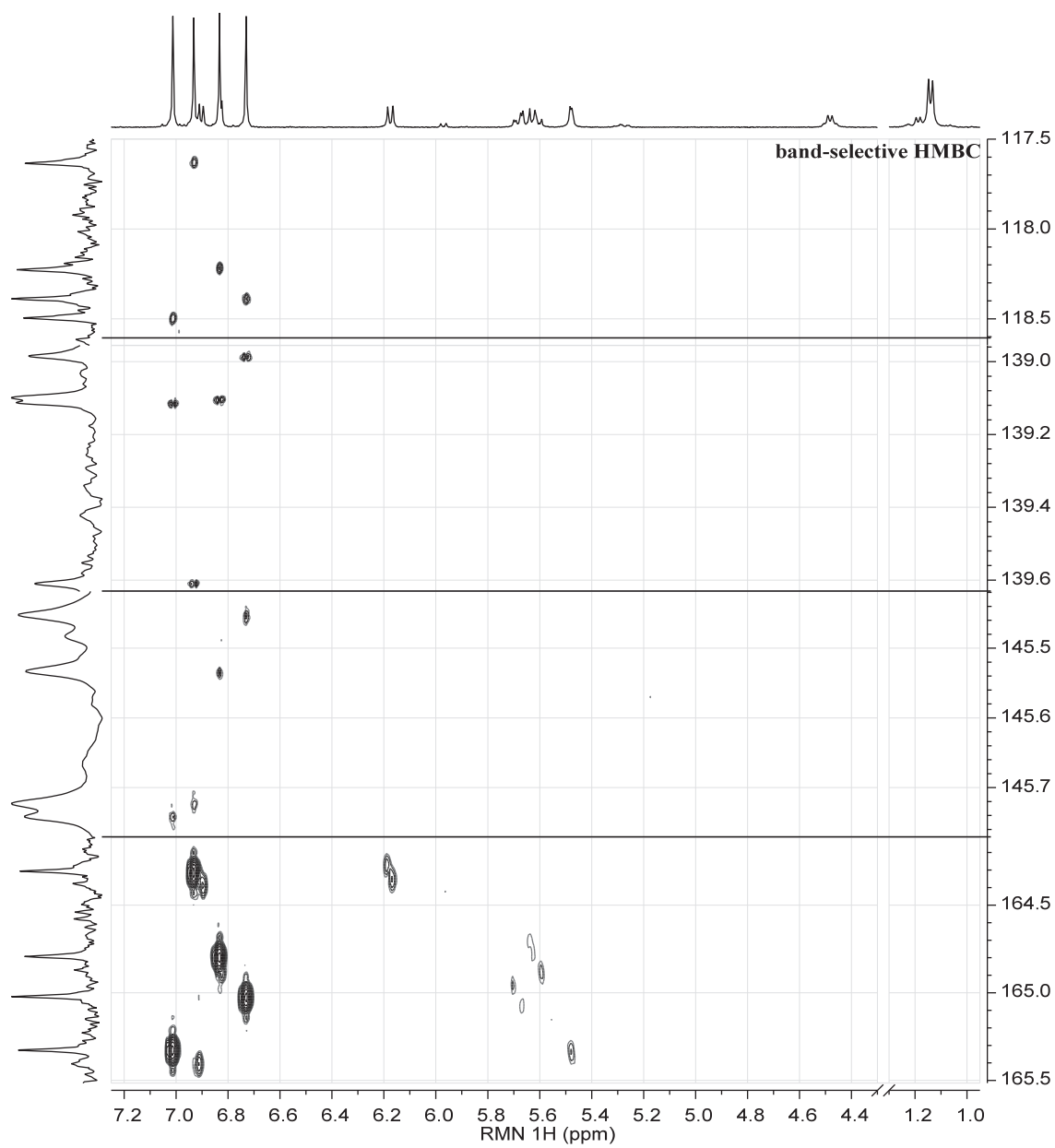
2D NMR spectra of 1,2,3,4-tetra-*O*-galloyl- β -L-rhamnopyranoside (1129)



2D NMR spectra of 1,2,3,4-tetra-*O*-galloyl- α -L-fucopyranoside (**1130**)



2D NMR spectra of 1,2,3,4-tetra-*O*-galloyl- β -L-fucopyranoside (**1131**)



CHAPITRE 9

DISCUSSIONS GÉNÉRALES ET CONCLUSIONS

1. SAPIN BAUMIER

La première hypothèse associée à ce travail de recherche était que la cytotoxicité de l'oléorésine du sapin baumier (*Abies balsamea*) est causée par au moins une substance, elle-même cytotoxique. Pour vérifier cette hypothèse, des molécules ont été isolées et identifiées, mais sans suivre la méthode d'isolement guidée par les bioessais. Malgré cela, six diterpènes (**573**, **620**, **632**, **655**, **666**, **680**), douze triterpènes (**712**, **714**, **760**, **823**, **824**, **825**, **826**, **828**, **831**, **832**, **838**, **841**) et dix tétraterpènes (**855**, **856**, **1061-1068**) ont été isolés à partir de l'oléorésine. La caractérisation de leur structure ainsi que l'évaluation de leurs activités biologiques ont été décrites aux chapitres 3-5. Il faut d'abord noter que quatre triterpènes (**714**, **825**, **831**, **841**) ont été décrits pour la première fois dans la littérature. Une cinquième molécule (**838**) avait été décrite sous la forme d'un diester méthylique. En effet, l'équipe dirigée par le professeur Viktor A. Raldugin [462], un pionnier dans l'étude des composés issus des conifères, effectuait une méthylation des extraits afin de faciliter le processus d'isolement [49]. Malgré cela, dans leurs publications, ils rapportaient les molécules sous leur forme non méthylées. Malheureusement, cette façon de faire masque la présence des molécules méthylées naturellement, comme c'est le cas pour le composé **841**.

La caractérisation structurale de ces composés a été relativement simple pour les diterpènes et les triterpènes (chapitre 4). En effet, l'analyse des données RMN et MS a permis d'élucider leur structure ainsi que leur stéréochimie relative. Cependant, la caractérisation des tétraterpènes avec leur chaîne latérale mobile a été plus compliquée. Des modèles *in silico* ont été élaborés afin d'être en mesure d'interpréter les corrélations ROESY observées (chapitre 5). Cette méthodologie a déjà été employée avec succès pour des structures macrocycliques [463]. En effet, dans ce cas, la configuration relative au niveau du pont méthylénique entre deux nucléotides a pu être déterminée.

L'activité anticancéreuse des substances a été évaluée en utilisant trois lignées cellulaires, soit des carcinomes pulmonaires (A549), des adénocarcinomes colorectaux (DLD-1) et des fibroblastes humains normaux (WS1). Rappelons d'abord que l'oléorésine empêchait la prolifération de ces cellules avec des IC_{50} de 69 ± 8 , 72 ± 4 et $38 \pm 3 \mu\text{g ml}^{-1}$, respectivement [38]. Les diterpènes et les triterpènes isolés n'ont pas démontrés d'activités significatives. Quant aux tétraterpènes, certains ont montré des activités sélectives contre les carcinomes pulmonaires (A549) comme l'abibalsamine H (**1065**, $IC_{50} = 4 \pm 1 \mu\text{g ml}^{-1}$) et l'abibalsamine J (**1068**, $IC_{50} = 6 \pm 2 \mu\text{g ml}^{-1}$). Cependant, étant donné

la très faible concentration de ces tétraterpènes dans l'oléorésine (9 à 112 ppm), l'activité anticancéreuse ne peut être complètement expliquée par leur seule présence.

Il faudra donc chercher davantage afin d'identifier les véritables responsables de l'activité observée. Est-ce la somme des faibles activités de chacune des molécules? Est-ce la présence d'autres molécules encore plus actives? Est-ce la présence d'une molécule synergique qui rend l'activité des tétraterpènes encore plus élevée? Par exemple, on sait que le β -caryophyllène (**491**), présent dans l'huile essentielle du sapin baumier [13], augmente l'activité anticancéreuse du paclitaxel [16]. Dans tous les cas, il conviendra de suivre une méthode plus systématique d'isolement guidé par les bioessais [464].

À l'égard de ces résultats, on peut affirmer que l'hypothèse est vérifiée. En effet, l'activité anticancéreuse de l'oléorésine du sapin baumier est causée par au moins une substance. Malheureusement, même si ces substances présentent des activités anticancéreuses intéressantes de par leur sélectivité, il serait difficile de les développer davantage. La très faible concentration de ces molécules et la difficulté à les isoler freinent toute ambition de développement pharmaceutique.

Malgré cela, il serait intéressant d'étudier encore les structures tétraterpéniques. D'abord, parce que ces molécules ont une structure unique. Également, il faudrait prouver hors de tout doute la stéréochimie proposée au chapitre 5. À ce propos, des essais de cristallisation plus poussés pourraient être réalisés. Également, les spectres de dichroïsme circulaire vibrationnel pourraient être simulés et comparés aux spectres expérimentaux.

2. QUATRE-TEMPS

Comme pour le sapin, la deuxième hypothèse de ce travail était que l'activité antivirale du quatre-temps (*Cornus canadensis*) est causée par au moins une substance, elle-même antivirale. Grâce à un fractionnement guidé par les bioessais, sept tannins hydrolysables (**965-967**, **970**, **976-977**, **1078**) ont été isolés à partir d'une fraction active (figure 106, p. 326), en plus de l'acide caféique (**259**). Parallèlement, huit flavonoïdes glycosylés (**43-44**, **49**, **55**, **930**, **1080**, **1083-1084**) ont été isolés à partir d'une fraction inactive (figure 112, p. 331), en plus de deux composés phénoliques (**1079**, **1081**) et d'un terpène (**1082**). Tous ces composés ont été caractérisés par l'analyse des spectres RMN et des indices de rotation spécifiques. Bien que les composés **43**, **44** et **55** aient déjà été rapportés dans le quatre-temps [276], tous les autres composés sont décrits pour la première fois dans cette plante, ou même pour la première fois dans le genre *Cornus* en ce qui concerne les composés **1078-1084**.

L'activité antiherpétique des composés isolés a été déterminée une première fois en plaque 24 puits par un compte des plages de lyse (tableau 62, p. 352). Les tannins hydrolysables **967**, **970**, **976** et **977** se sont avérés actifs en mode direct avec des valeurs comprises entre 2,6 et 9 μM . Ce type d'activité est décrit pour la première fois dans le genre *Cornus*, qui a surtout été étudié pour son action contre les virus VIH [329, 330] et HCV [299]. Malheureusement, ces résultats n'ont que partiellement été reproduits. En effet, lorsque l'activité antivirale de tous les composés isolés a été déterminée, cette fois en plaque 96 puits avec un compte indirect à la résazurine, aucun ne s'est avéré actif (tableau 63, p. 353). Une deuxième expérience du même type a été réalisée avec la tellimagrandine I (**976**) et cette fois, l'activité observée en plaque 24 puits a été confirmée. La grande variabilité des tests antiviraux effectués dans cette thèse n'est pas un cas isolé. Par exemple, avec le PGG (**970**), des valeurs comprises entre 0,05 à 12 μM ont été rapportée dans la littérature (voir tableau 66, p. 371). Un examen attentif des protocoles montre que différentes méthodes ont été utilisées, ce qui pourrait expliquer cette disparité.

Le mécanisme d'action, tant pour les extraits que pour les composés isolés, semble impliquer une interaction directe entre les principes actifs et le virus. En effet, dans tous les cas, l'activité antivirale est plus forte lorsque les échantillons sont en contact avec le virus 1h avant l'inoculation sur les cellules hôtes (voir tableau 49, p. 315 ; figure 96, p. 317 ; tableau 62, p. 352 ; tableau 65, p. 367). Aussi, à quelques occasions, les échantillons ont montré une très légère activité lorsqu'ajoutés dans le milieu de culture après l'inoculation. Malheureusement, cette proposition de mécanisme est en

complète contradiction avec une étude récente dans laquelle le PGG (970) a été étudié en profondeur [414]. D'abord, il a été montré que le PGG est en mesure d'inhiber la prolifération du virus même lorsqu'ajouté jusqu'à 72h après l'inoculation. Également, le PGG a été en mesure de réguler à la baisse l'expression de la cofilin1, une protéine de la cellule hôte importante pour l'infectivité. De toute évidence, le protocole pour l'évaluation de l'activité antivirale devra être revu. À ce propos, les lectures suivantes sont suggérées [465-469].

Malgré les problèmes rencontrés avec le test de l'activité antivirale, la deuxième hypothèse du travail est donc validée. Les tannins hydrolysables sont les composés responsables de l'activité biologique de l'extrait de *C. canadensis*. Cela est cohérent avec l'étude de Yue *et al.*, dans laquelle les mêmes tannins hydrolysables ont été identifiés à partir d'un extrait de fruits de *C. officinalis* [299]. Les composés se sont avérés de bons inhibiteurs de la protéase NS3, une enzyme impliquée dans la pathologie de l'hépatite C.

Également, une étude *in vivo* a été réalisée à l'INRS-Institut Armand-Frappier. Pour ce faire, des groupes de souris ont été infectés dans les yeux avec le HSV-1. Des extraits de *C. canadensis* à différentes concentrations ont été administrés directement dans les yeux des souris. L'évolution de la maladie a été suivie par un examen visuel des symptômes, ainsi que par la titration des virus dans les larmes et les ganglions trigéminaux. Les résultats permettent de constater une amélioration marginale, mais significative de la santé des souris lorsque celles-ci ont été traitées avec la plus forte dose d'extrait. Cependant, la quantité de virus dans les larmes et les ganglions n'a pas diminuée. Cette étude devra donc être renouvelée avec des doses plus élevées.

Étant donné les activités antivirales intéressantes des composés isolés, il a été décidé de préparer des dérivés du PGG (970) en variant la nature du sucre. Ceux-ci ont été synthétisés en deux étapes, soit une estérification de Steglich suivie d'une hydrogénolyse (figure 141, p. 412). Les rendements obtenus sont très faibles (1-31 %), mais comme le but était d'abord d'évaluer leurs activités biologiques, les réactions n'ont pas été optimisées. Les composés obtenus ont été caractérisés de manière très détaillées grâce à des spectres RMN 2D à excitations sélectives (chapitre 8). Par la suite, leurs activités antivirales, antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et antimicrobiennes ont été évaluées. Rappelons d'abord qu'une partie de ces composés avait déjà été synthétisée afin d'évaluer leur capacité à stimuler les récepteurs à insuline et donc, à réduire la concentration du

glucose dans le sang [446]. Les seuls dérivés actifs sont ceux qui présentaient une stéréochimie comparable à celle du glucose (xylose et 6-deoxy-glucose).

En ce qui concerne l'activité antiherpétique, des résultats positifs en mode direct ont bien été observés. Certains composés se sont même avérés beaucoup plus actifs que le PGG (**970**), ce dernier s'étant montré inactif dans la même expérience. C'est le cas du 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- α -D-fucopyranoside (**1132**), avec une EC_{50} de 22 ± 1 μ M. Il sera intéressant d'étudier à nouveau ces composés lorsqu'un test antiviral reproductible sera disponible.

Les activités antioxydante et anti-inflammatoire se sont montrées peu intéressantes. Par contre, la plupart des composés ont montré des activités anticancéreuses sélectives contre les carcinomes pulmonaires (A549) et les adénocarcinomes colorectaux (DLD-1). Selon les résultats, des composés seraient cytotoxiques contre les lignées cellulaires cancéreuses et cytostatiques contre les cellules normales (WS1). Le dérivé le plus intéressant est le 1,2,3,4-tétra-*O*-galloyl- β -L-arabinopyranoside (**1125**). En effet, ce dernier présente l'une des meilleures activités contre les cellules A549 et DLD-1 et présente aussi la meilleure sélectivité envers les cellules normales (WS1).

Des travaux antérieurs suggéraient que l'extrait de *C. canadensis* inhibait la réplication du virus de l'herpès. Cette activité, bien que beaucoup plus faible, a été observée avec les racines du quatre-temps (tableau 49, p. 315). L'étude temporelle entreprise pour comprendre ces variations a d'abord permis de mettre en lumière la diminution du rendement d'extraction et une augmentation de la concentration de certains tannins et dérivés de l'acide caféique (voir sections 3.6.1 et 3.6.2 du chapitre 6). De plus, des différences de composition des racines et des parties aériennes ont été observées (figure 129, p. 360). Par contre, l'activité antivirale des extraits est la même dans chaque partie de la plante, que celles-ci aient été séchées ou non avant l'extraction, et cela, peu importe le site de cueillette (figure 137, p. 368). La seule variable qui a semblé influencer l'activité biologique est le jour de cueillette (figure 138, p. 369), mais cette conclusion est à prendre avec une extrême prudence étant donné la grande variabilité du test antiherpétique.

Pour poursuivre le développement pharmaceutique de la plante, la première étape sera de développer un test antiviral rapide et reproductible. Par la suite, l'activité antiherpétique des composés isolés devra être évaluée sans ambiguïté. Le test *in vivo* devra être réalisé à plus grande échelle, et avec des doses plus élevées. Bien évidemment, une forme galénique stable de l'extrait devra être mise

au point avant de réaliser les tests cliniques. Dans cette optique, une combinaison avec l'acyclovir pourrait être envisagée afin de contourner les résistances développées par le virus. Déjà, l'efficacité de la combinaison pourrait être déterminée via un test *in vitro*.

RÉFÉRENCES

1. Ressources naturelles Canada. *L'État des forêts au Canada 2004-2005 : La forêt boréale*. (2005). Ottawa.
2. Pothier, D. (2001). Portrait de la forêt boréale québécoise. *Le Naturaliste Canadien*, 125(3), 5-9.
3. Wikipedia. (2014). *Boreal forest of Canada*. Récupéré le 27 août 2014 de http://en.wikipedia.org/wiki/Boreal_forest_of_Canada
4. Cody, W.J. (2000). *Flora of the Yukon Territory*. (2nd Edition éd. Vol. 643). Ottawa : NRC Research Press.
5. Marie-Victorin, F., Rouleau, E. et Brouillet, L. (1995). *Flore Laurentienne*. (3rd éd.) : Gaëtan Morin.
6. Boulay, É. (2013). *Ressources et Industries Forestières. Portrait Statistiques Édition 2013*. Québec: Ministère des Ressources naturelles.
7. Ministère des Ressources naturelles, de la Faune et des Parcs, Turgeon, M. (2003). *Aperçu des produits forestiers non ligneux (PFNL)*. Québec: Ministère des Ressources naturelles, de la Faune et des Parcs.
8. Lavoie, S., Pichette, A., Garneau, F.X., Girard, M. et Gaudet, D. (2001). Synthesis of betulin derivatives with solid supported reagents. *Synthetic Communications*, 31(10), 1565-1571.
9. Legault, J., Dahl, W., Debiton, E., Pichette, A. et Madelmont, J.C. (2003). Antitumor activity of balsam fir oil: Production of reactive oxygen species induced by α -humulene as possible mechanism of action. *Planta Medica*, 69(5), 402-407. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2003-39695>
10. Pichette, A., Liu, H., Roy, C., Tanguay, S., Simard, F. et Lavoie, S. (2004). Selective oxidation of betulin for the preparation of betulinic acid, an antitumoral compound. *Synthetic Communications*, 34(21), 3925-3937.
11. Sylvestre, M., Legault, J., Dufour, D. et Pichette, A. (2005). Chemical composition and anticancer activity of leaf essential oil of *Myrica gale* L. *Phytomedicine*, 12(4), 299-304.
12. Gauthier, C., Legault, J., Lebrun, M., Dufour, P. et Pichette, A. (2006). Glycosidation of lupane-type triterpenoids as potent in vitro cytotoxic agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 14(19), 6713-6725.
13. Pichette, A., Larouche, P.L., Lebrun, M. et Legault, J. (2006). Composition and antibacterial activity of *Abies balsamea* essential oil. *Phytotherapy Research*, 20(5), 371-373. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.1863>
14. Pichette, A., Lavoie, S., Morin, P., Mshvildadze, V., Lebrun, M. et Legault, J. (2006). New labdane diterpenes from the stem bark of *Larix laricina*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 54(10), 1429-1432.
15. Dufour, D., Pichette, A., Mshvildadze, V., Bradette-Hébert, M.E., Lavoie, S., Longtin, A., Laprise, C. et Legault, J. (2007). Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of

- methanolic extracts from *Ledum groenlandicum* Retzius. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(1), 22-28.
16. Legault, J. et Pichette, A. (2007). Potentiating effect of β -caryophyllene on anticancer activity of α -humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(12), 1643-1647.
 17. Mshvildadze, V., Legault, J., Lavoie, S., Gauthier, C. et Pichette, A. (2007). Anticancer diarylheptanoid glycosides from the inner bark of *Betula papyrifera*. *Phytochemistry*, 68(20), 2531-2536.
 18. Sylvestre, M., Pichette, A., Lavoie, S., Longtin, A. et Legault, J. (2007). Composition and cytotoxic activity of the leaf essential oil of *Comptonia peregrina* (L.) Coulter. *Phytotherapy Research*, 21(6), 536-540.
 19. Thibeault, D., Gauthier, C., Legault, J., Bouchard, J., Dufour, P. et Pichette, A. (2007). Synthesis and structure-activity relationship study of cytotoxic germanicane- and lupane-type 3β -O-monodesmosidic saponins starting from betulin. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 15(18), 6144-6157.
 20. Thibeault, D., Legault, J., Bouchard, J. et Pichette, A. (2007). Useful approach to access germanicanes from betulin. *Tetrahedron Letters*, 48(48), 8416-8419.
 21. Bradette-Hébert, M.E., Legault, J., Lavoie, S. et Pichette, A. (2008). A new labdane diterpene from the flowers of *Solidago canadensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56(1), 82-84.
 22. Gauthier, C., Legault, J., Lavoie, S., Rondeau, S., Tremblay, S. et Pichette, A. (2008). Synthesis of two natural betulinic acid saponins containing α -l-rhamnopyranosyl-(1-2)- α -l-arabinopyranose and their analogues. *Tetrahedron*, 64(30-31), 7386-7399.
 23. Simard, F., Legault, J., Lavoie, S., Mshvildadze, V. et Pichette, A. (2008). Isolation and identification of cytotoxic compounds from the wood of *Pinus resinosa*. *Phytotherapy Research*, 22(7), 919-922.
 24. Gauthier, C., Legault, J., Girard-Lalancette, K., Mshvildadze, V. et Pichette, A. (2009). Haemolytic activity, cytotoxicity and membrane cell permeabilization of semi-synthetic and natural lupane- and oleanane-type saponins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(5), 2002-2008.
 25. Gauthier, C., Legault, J., Lavoie, S., Rondeau, S., Tremblay, S. et Pichette, A. (2009). Synthesis and cytotoxicity of bidesmosidic betulin and betulinic acid saponins. *Journal of Natural Products*, 72(1), 72-81.
 26. Gauthier, C., Legault, J., Piochon, M., Lavoie, S., Tremblay, S. et Pichette, A. (2009). Synthesis, cytotoxicity, and haemolytic activity of chacotrioside lupane-type neosaponins and their germanicane-type rearrangement products. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19(8), 2310-2314.
 27. Gauthier, C., Legault, J., Rondeau, S. et Pichette, A. (2009). Synthesis of betulinic acid acyl glucuronide for application in anticancer prodrug monotherapy. *Tetrahedron Letters*, 50(9), 988-991.
 28. Piochon, M., Legault, J., Gauthier, C. et Pichette, A. (2009). Synthesis and cytotoxicity evaluation of natural α -bisabolol β -d-fucopyranoside and analogues. *Phytochemistry*, 70(2), 228-236.
 29. Pichette, A., Eftekhari, A., Georges, P., Lavoie, S., Mshvildadze, V. et Legault, J. (2010). Cytotoxic phenolic compounds in leaf buds of *Populus tremuloides*. *Canadian Journal of Chemistry*, 88(2), 104-110.

30. Thibeault, D., Legault, J., Gauthier, C., Lavoie, S., Bouchard, J. et Pichette, A. (2010). Acid-catalyzed E-ring expansion and isomerization of 3-acetylbetulin: Synthesis of cytotoxic anhydrobetulin saponins. *Synthetic Communications*, 40(2), 213-221.
31. Georges, P., Legault, J., Lavoie, S., Grenon, C. et Pichette, A. (2012). Diterpenoids from the buds of *Pinus banksiana* Lamb. *Molecules*, 17(8), 9716-9727. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules17089716>
32. Thibeault, D., Gauthier, C., Legault, J., Bouchard, J., Gagné, L. et Pichette, A. (2012). Synthesis and cytotoxicity of lupane-type triterpenoid glyceryl esters. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 22(14), 4735-4739. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.05.073>
33. Lavoie, S., Legault, J., Simard, F., Chiasson, É. et Pichette, A. (2013). New antibacterial dihydrochalcone derivatives from buds of *Populus balsamifera*. *Tetrahedron Letters*, 54(13), 1631-1633. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2012.12.012>
34. Legault, J., Girard-Lalancette, K., Dufour, D. et Pichette, A. (2013). Antioxidant Potential of Bark Extracts from Boreal Forest Conifers. *Antioxidants*, 2(3), 77-89.
35. Simard, F., Legault, J., Lavoie, S. et Pichette, A. (2014). Balsanones D-I, dihydrocinnamoyl flavans from *Populus balsamifera* buds. *Phytochemistry*, 100(0), 141-149. <http://dx.doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.12.018>
36. Newman, D.J. et Cragg, G.M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75(3), 311-335. <http://dx.doi.org/10.1021/np200906s>
37. Canada, S. (2012, 2012-12-28). *Règlement sur les produits de santé naturels au Canada. Médicaments et produits de santé*. Récupéré le 27 août 2014 de <http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mpps/prodnatur/about-apropos/index-fra.php>
38. Mercier, S. (2013). *Isolation et caractérisation de composés bioactifs de la résine de sapin baumier (Abies balsamea (L.) Mill)*. Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi. Maîtrise.
39. Côté, I. (2011). *Évaluation de l'activité antivirale de cinq espèces végétales de la forêt boréale contre les virus influenza de type A et l'herpès simplex de type 1*. Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi. Maîtrise.
40. Thieret, J.W. (1993). Pinaceae. Dans Flora of North America Editorial Committee (dir.), *Flora of North America* (Vol. 2).
41. Larousse. (2009). Sempervirent. Dans *Le petit Larousse illustré* (p. 1812). Paris
42. Hunt, R.S. (1993). *Abies*. Dans Flora of North America Editorial Committee (dir.), *Flora of North America* (Vol. 2).
43. Larousse. (2009). Verticillé. Dans *Le petit Larousse illustré* (p. 1812). Paris
44. Larousse. (2009). Apex. Dans *Le petit Larousse illustré* (p. 1812). Paris
45. Larousse. (2009). Sessile. Dans *Le petit Larousse illustré* (p. 1812). Paris
46. Adaxial. (2014). *Glossaire botanique*. Wikipedia. Récupéré le 27 mai 2014 de http://fr.wikipedia.org/wiki/Glossaire_de_botanique
47. Émarginé. (2014). *Glossaire botanique*. Wikipedia. Récupéré le 27 mai 2014 de http://fr.wikipedia.org/wiki/Glossaire_de_botanique
48. Warren, R. et Johnson, E.W. (1988). A Guide to the Firs (*Abies* spp.) of the Arnold Arboretum. *Arnoldia*, 48(1), 3-48.
49. Raldugin, V.A. et Shevtsov, S.A. (1990). Triterpenoids of plants of the genus *Abies* Hill. *Chemistry of Natural Compounds*, 26(4), 373-382. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00598986>
50. Yang, X.W., Li, S.M., Shen, Y.H. et Zhang, W.D. (2008). Phytochemical and biological studies of *Abies* species. *Chemistry & Biodiversity*, 5(1), 56-81.

51. Microsoft. (2013). *Access*.
52. Mărculescu, A. et Gleizes, M. (2001). Studii asupra compoziției de substanțe volatile la speciilor de conifere din zona montană 1. Frunzele de brad (*Abies alba* Mill.). *Revista de Chimie*, 52(12), 774-783.
53. Barton, G.M. et Gardner, J.A.F. (1962). The occurrence of matairesinol in Mountain Hemlock (*Tsuga mertensiana*), Western Hemlock (*Tsuga heterophylla*), and Balsam (*Abies amabilis*). *Journal of Organic Chemistry*, 27(1), 322-323.
54. Parker, W.H., Maze, J. et McLachlan, D.G. (1979). Flavonoids of *Abies amabilis* needles. *Phytochemistry*, 18(3), 508-510.
55. Caron, L., Deslauriers, A., Mshvildadze, V. et Pichette, A. (2013). Volatile compounds in the foliage of balsam fir analyzed by static headspace gas chromatography (HS-GC): An example of the spruce budworm defoliation effect in the boreal forest of Quebec, Canada. *Microchemical Journal*, 110, 587-590. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2013.07.003>
56. Couladis, M., Mabry, T. et Verykokidou, E. (1997). Phenolics from *Abies Cephanelica* and *Abies Borisii-Regis*. *Asian Journal of Chemistry*, 9(4), 889-890.
57. Li, Y.L., Yang, X.W., Li, S.M., Tang, J., Tian, J.M., Peng, X.Y., Huang, D.S. et Zhang, W.D. (2009). Two new spirobiflavonoids from *Abies chensiensis* with moderate NO production inhibitory activity. *Planta Medica*, 75(14), 1534-1537. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0029-1185746>
58. Bağcı, E., Başer, K.H.C., Kürkçüoğlu, M., Babaç, T. et Çelik, S. (1999). Study of the essential oil composition of two subspecies of *Abies cilicica* (Ant. et Kotschy) Carr. from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 14(1), 47-49. [http://dx.doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1026\(199901/02\)14:1<47::aid-ffj782>3.0.co;2-r](http://dx.doi.org/10.1002/(sici)1099-1026(199901/02)14:1<47::aid-ffj782>3.0.co;2-r)
59. Hergert, H.L. et Kurth, E.F. (1953). The isolation and properties of catechol from white fir bark. *Journal of Organic Chemistry*, 18(5), 521-529.
60. Strack, D., Heilemann, J., Mömken, M. et Wray, V. (1988). Cell wall-conjugated phenolics from Coniferae leaves. *Phytochemistry*, 27(11), 3517-3521.
61. Kolaylı, S., Ocak, M., Auyazicioglu, R. et Karaoglu, S. (2009). Chemical analysis and biological activities of essential oils from trunk-barks of eight trees. *Asian Journal of Chemistry*, 21(4), 2684-2694.
62. Tanaka, R., Inosiri, A., Yoneda, M., Ishida, T., Numada, A. et Matsunaga, S. (1990). A tetracyclic triterpene lactone and other constituents from the bark of *Abies firma*. *Phytochemistry*, 29(10), 3263-3265. [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)80196-n](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(90)80196-n)
63. Yu, P., Zhang, S.D., Li, Y.L., Yang, X.W., Zeng, H.W., Li, H.L. et Zhang, W.D. (2012). Abieseconordines A and B, two novel norditerpenoids with a 18-nor-5,10:9,10-disecoabietane skeleton from *Abies forrestii*. *Helvetica Chimica Acta*, 95(3), 415-422. <http://dx.doi.org/10.1002/hlca.201100341>
64. Carlow, S.J., Ayers, L., Bailey, A., John, B., Richardson, A., Shepherd, B., Woosley, R.S. et Butcher, D.J. (2006). Determination of volatile compounds in foliage of Fraser fir (*Abies fraseri*) and balsam fir (*Abies balsamea*). *Microchemical Journal*, 83(2), 91-97.
65. Yang, X.W., Li, S.M., Feng, L., Shen, Y.H., Tian, J.M., Zeng, H.W., Liu, X.H., Shan, L., Su, J., Zhang, C. et Zhang, W.D. (2008). Abiesanol A, a novel biflavanol with unique six connective hexacyclic rings isolated from *Abies georgei*. *Tetrahedron Letters*, 49(19), 3042-3044.
66. Yang, X.W., Li, Y.L., Li, S.M., Shen, Y.H., Tian, J.M., Zhu, Z.J., Feng, L., Wu, L., Lin, S., Wang, N., Liu, Y. et Zhang, W.D. (2010). Mono- and Sesquiterpenoids, Flavonoids, Lignans, and Other Miscellaneous Compounds of *Abies georgei*. *Planta Medica* <http://dx.doi.org/10.1055/s-0030-1250550>

67. Kim, C.S., Kwon, O.W., Kim, S.Y. et Lee, K.R. (2013). Bioactive lignans from the Trunk of *Abies holophylla*. *Journal of Natural Products*, 76(11), 2131-2135. <http://dx.doi.org/10.1021/np4005322>
68. Kim, Y.G., Lee, H.J., Ozawa, S.J., Sasaya, T. et Moon, C.K. (1994). Lignans of *Abies koreana* Wilson. *Mokuzai Gakkaishi*, 40, 414-418.
69. Kim, H.J., Le, Q.K., Lee, M.H., Kim, T.S., Lee, H.K., Kim, Y.H., Bae, K. et Lee, I.S. (2001). A Cytotoxic Secocycloartenoid from *Abies koreana*. *Archives of Pharmacal Research*, 24(6), 527-531.
70. Baek, S.W., Kim, E.R., Kim, J. et Kim, Y.C. (2011). Chemical constituents of *Abies koreana* leaves with inhibitory activity against nitric oxide production in BV2 microglia cells. *Natural Product Sciences*, 17(3), 175-180.
71. Ohira, T. et Yatagai, M. (1992). Extractives of *Abies mariesii* Masters. A new triterpene from the bark. *Mokuzai Gakkaishi*, 38(2), 180-185.
72. Ohira, T. et Yatagai, M. (1993). Extractives of *Abies mariesii* Masters II. The efficient extraction of maltol using supercritical fluid, and its antifungal and plant growth regulation effects. *Mokuzai Gakkaishi*, 39(2), 237-242.
73. Omori, S., Ozawa, S. et Taneda, K. (1994). The extractives of Aomori todomatsu (*Abies mariesii* Masters). Isolations of lignans from the heartwood. *Mokuzai Gakkaishi*, 40(10), 1107-1118.
74. Barrero, A.F., Haïdour, A., Dorado, M.M. et Cuerva, J.M. (1996). Two sesquilignans from the wood of *Abies Marocana*. *Phytochemistry*, 41(2), 605-609.
75. Leont'eva, V.G., Modonova, L.D. et Tyukavkina, N.A. (1975). Lignans from *Abies nephrolepis* and *Picea ajanensis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 9(2), 252-253. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00563355>
76. Medvedeva, S.A., Ivanova, S.Z., Lutsii, V.I., Keiko, V.V. et Tyukavkina, N.A. (1975). Phenolic acids and their glycosides from the needles of *Abies sibirica* and *A. nephrolepis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 10(3), 407. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00563913>
77. Leont'eva, V.G., Modonova, L.D., Voronov, V.K. et Tyukavkina, N.A. (1976). New O-acyl derivatives of lariciresinol. *Chemistry of Natural Compounds*, 12(2), 147-150. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00566332>
78. Leont'eva, V.G., Modonova, L.D., Tyukavkina, N.A. et Puntusova, E.G. (1977). O-acylated lignans from the wood of *Abies* species. *Chemistry of Natural Compounds*, 13(3), 288-290. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00573542>
79. Li, R., Jiang, Z.T. et Yu, J.C. (2005). Essential oil composition of the needles of *Abies nephrolepis* Maxim from China. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(5), 534-536. <http://dx.doi.org/10.1002/ffj.1461>
80. Li, Y.L., Wu, L., Ouyang, D.W., Yu, P., Xia, J.H., Pan, Y.X., Yang, X.W., Zeng, H.W., Cheng, X.R., Jin, H.Z. et Zhang, W.D. (2011). Phenolic compounds of *Abies nephrolepis* and their NO production inhibitory activities. *Chemistry and Biodiversity*, 8(12), 2299-2309. <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.201000373>
81. Tiwari, K.P. et Minocha, P.K. (1980). A chalcone glycoside from *Abies pindrow*. *Phytochemistry*, 19(11), 2501-2503.
82. Tripathi, M., Jain, L. et Pandey, V.B. (1996). Flavonoids of *Abies pindrow* leaves. *Fitoterapia*, 67(5), 477.
83. Willför, S., Ali, M., Karonen, M., Reunanen, M., Arfan, M. et Harlamow, R. (2009). Extractives in bark of different conifer species growing in Pakistan. *Holzforschung*, 63(5), 551-558. <http://dx.doi.org/10.1515/hf.2009.095>

84. Barrero, A.F., Haïdour, A. et Dorado, M.M. (1993). Sesquipinsapols A and B: Two sesquilignans from *Abies pinsapo*. *Natural Product Letters*, 2, 255-262.
85. Barrero, A.F., Haidour, A., Dorado, M.M., Gravalos, D.G. et Quesada, T.G. (1994). Lignans from the wood of *Abies pinsapo*. *Journal of Natural Products*, 57(6), 713-719. <http://dx.doi.org/10.1021/np50108a005>
86. Takehara, T., Kobayashi, T. et Sasaya, T. (1980). Extractives of Todomatsu *Abies sachalinensis* Masters I. Lignans esters in the compression and opposite woods from leaning stem. *Mokuzai Gakkaishi*, 26, 274-279.
87. Sasaya, T., Takehara, T. et Kobayashi, T. (1980). Extractives of Todomatsu *Abies sachalinensis* Masters II. Lignans in the compression and opposite woods from leaning stem. *Mokuzai Gakkaishi*, 26(11), 759-764.
88. Numata, A., Hokimoto, K. et Takemura, T. (1983). Plant constituents biologically active to insects. II. Javabione analogs from *Abies sachalinensis* Mast. (1). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 31(2), 436-442.
89. Ozawa, S. et Sasaya, T. (1987). A new cyclolignan containing a lactol ring from *Abies sachalinensis* Masters. *Mokuzai Gakkaishi*, 33(9), 747-748.
90. Ozawa, S. et Sasaya, T. (1988). Extractives of todomatsu *Abies sachalinensis* Masters IV. New cyclolignans containing a lactol ring from the wood of *Abies sachalinensis*. *Mokuzai Gakkaishi*, 34, 169-175.
91. Ozawa, S. et Tabei, Y. (1988). Extractives of Todomatsu *Abies sachalinensis* Masters V. A novel dibenzylbutyrolactol lignan from the wood of *Abies sachalinensis*. *Mokuzai Gakkaishi*, 34, 851-857.
92. Ozawa, S., Sasaya, T. et Tabei, Y. (1988). Extractives of todomatsu *Abies sachalinensis* Masters VI. Dihydrobenzofurans and tetrahydrofurans from the wood of *Abies sachalinensis*. *Mokuzai Gakkaishi*, 34, 942-946.
93. Ozawa, S. et Sasaya, T. (1991). Extractives of todomatsu *Abies sachalinensis* Masters VII. New phenylpropane trimers from the wood of *Abies sachalinensis*. *Mokuzai Gakkaishi*, 37, 69-75.
94. Numata, A., Kawai, K., Takahashi, C. et Miyamoto, T. (1992). Occurrence of epijuvabione-type sesquiterpenoids in *Abies sachalinensis*. *Phytochemistry*, 31(11), 3773-3780.
95. Kurose, K. et Yatagai, M. (2005). Compounds of the essential oil from *Abies sachalinensis* (Fr. Schm.) Mast. cones. *Journal of Essential Oil Research*, 17(2), 147-149.
96. Wada, S.I., Hitomi, T. et Tanaka, R. (2009). Phenolic compounds isolated from the bark of *Abies sachalinensis*. *Helvetica Chimica Acta*, 92(8), 1610-1620. <http://dx.doi.org/10.1002/hlca.200900032>
97. Wada, S.I., Hitomi, T., Tokuda, H. et Tanaka, R. (2010). Anti-tumor-initiating effects of spiro-biflavonoids from *Abies sachalinensis*. *Chemistry and Biodiversity*, 7(9), 2303-2308. <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.201000147>
98. Tyukavkina, N.A., Medvedeva, S.A. et Ermolaeva, L.N. (1970). Vanillin and veratraldehyde from *Abies sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 6(1), 126. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00564181>
99. Medvedeva, S.A., Modonova, L.D., Leont'eva, V.G., Glazkova, V.N. et Tyukavkina, N.A. (1973). Liovil from *Abies sibirica* and *Picea obovata*. *Chemistry of Natural Compounds*, 7(1), 100-101. <http://dx.doi.org/10.1007/bf01032038>
100. Tyukavkina, N.A., Medvedeva, S.A., Ivanova, S.Z. et Voronov, V.K. (1974). Maltol from needles of *Abies sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 8(5), 661. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00564353>

101. Gromova, A.S., Lutsii, V.I. et Tyukavkina, N.A. (1977). Phenolic acids of the phloem of *Abies nephrolepis*, *Pinus sibirica*, and *P. sylvestris*. *Chemistry of Natural Compounds*, 13(2), 237-238. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00563958>
102. Gornostaeva, L.I., Repyakh, S.M. et Levin, E.D. (1977). Phenols of the essential oil of *Abies sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 13(3), 354-355. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00573565>
103. Wu, L., Li, Y.L., Li, S.M., Yang, X.W., Xia, J.H., Zhou, L. et Zhang, W.D. (2010). Systematic phytochemical investigation of *Abies spectabilis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58(12), 1646-1649. <http://dx.doi.org/10.1248/cpb.58.1646>
104. Dall'Acqua, S., Minesso, P., Shresta, B.B., Comai, S., Jha, P.K., Gewali, M.B., Greco, E., Cervellati, R. et Innocenti, G. (2012). Phytochemical and antioxidant-related investigations on bark of *Abies spectabilis* (D. don) spach. from Nepal. *Molecules*, 17(2), 1686-1697. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules17021686>
105. Pu, Z. et Huang, Y. (1988). Study on the chemical constituents of the essential oil from *Abies squamata* MAST. *Chem. Abstr.*, 110
106. Yatagai, M. et Sato, T. (1986). Terpenes of Leaf Oils from Conifers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 14(5), 469-478.
107. Chatterjee, A., Kotoky, J., Das, K.K., Banerji, J. et Chakraborty, T. (1984). Abiesin, a biflavonoid of *Abies webbiana*. *Phytochemistry*, 23(3), 704-705.
108. Adams, R.P. (2007). *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry*. (4e éd.). Carol Stream, IL : Allured Publishing Corporation.
109. Zavarin, E. et Snajberk, K. (1965). Chemotaxonomy of the genus *Abies*-I. Survey of the terpenes present in the *Abies* balsams. *Phytochemistry*, 4(1), 141-148.
110. Manville, J.F., Bock, K. et von Rudloff, E. (1977). Occurrence of juvabione-type and epijuabione-type sesquiterpenoids in *Abies alba*. *Phytochemistry*, 16(12), 1967-1971.
111. Dormont, L., Roques, A. et Malosse, C. (1998). Cone and foliage volatiles emitted by *Pinus cembra* and some related conifer species. *Phytochemistry*, 49(5), 1269-1277. [http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422\(98\)00105-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422(98)00105-8)
112. Roussis, V., Couladis, M., Tzakou, O., Loukis, A., Petrakis, P.V., Dukic, N.M. et Jancic, R. (2000). A comparative study on the needle volatile constituents of three *Abies* species grown in South Balkans. *Journal of Essential Oil Research*, 12(1), 41-46.
113. Chalchat, J.C., Sidibé, L., Maksimovic, Z.A., Petrovic, S.D. et Gorunovic, M.S. (2001). Essential oil of *Abies alba* mill., Pinaceae, from the pilot production in Montenegro. *Journal of Essential Oil Research*, 13(4), 288-289.
114. Duquesnoy, E., Castola, V. et Casanova, J. (2007). Composition and chemical variability of the twig oil of *Abies alba* Miller from Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*, 22(4), 293-299. <http://dx.doi.org/10.1002/ffj.1796>
115. Harangi, J. (2008). Chromatographic index-intensity fingerprint: Identification of multicomponent samples. *Chromatographia*, 68(Suppl. 1), 77-83. <http://dx.doi.org/10.1365/s10337-008-0678-3>
116. Fojtová, J., Lojková, L. et Kubáň, V. (2010). Supercritical fluid extraction as a tool for isolation of monoterpenes from coniferous needles and walnut-tree leaves. *Central European Journal of Chemistry*, 8(2), 409-418. <http://dx.doi.org/10.2478/s11532-009-0146-4>
117. Smedman, L.Å., Snajberk, K., Zavarin, E. et Mon, T.R. (1969). Oxygenated monoterpenoids and sesquiterpenoid hydrocarbons of the cortical turpentine from different *Abies* species. *Phytochemistry*, 8(8), 1471-1479.
118. Zavarin, E. et Snajberk, K. (1972). Geographical variability of monoterpenes from *Abies balsamea* and *A. fraseri*. *Phytochemistry*, 11(4), 1407-1421.

119. Chung, J.L., Snajberk, K. et Zavarin, E. (1974). Chemical composition of the cortical essential oil from *Abies balsamea*. *Phytochemistry*, 13(1), 179-183.
120. Zavarin, E., Snajberk, K. et Critchfield, W.B. (1977). Relation of cortical monoterpenoid composition of *Abies* to tree age and size. *Phytochemistry*, 16(6), 770-772.
121. Ross, J., Gagnon, H., Girard, D. et Hachey, J.M. (1996). Chemical composition of the bark oil of balsam fir *Abies balsamea* (L.) mill. *Journal of Essential Oil Research*, 8(4), 343-346.
122. Bowman, J.M., Braxton, M.S., Churchill, M.A., Hellie, J.D., Starrett, S.J., Causby, G.Y., Ellis, D.J., Ensley, S.D., Maness, S.J., Meyer, C.D., Sellers, J.R., Hua, Y., Woosley, R.S. et Butcher, D.J. (1997). Extraction method for the isolation of terpenes from plant tissue and subsequent determination by gas chromatography. *Microchemical Journal*, 56(1), 10-18.
123. Uçar, G., Uçar, M.B., Özdemir, H. et Atici, E. (2010). Chemical characterization of volatile needle oils from anatolian fir species: *Abies nordmanniana* (Stev.) matff., *A. bornmülleriana* Matff., *A. equitrojani* Aschers et Sint. and *A. cilicica* Carr. *Journal of Essential Oil Research*, 22(6), 548-554.
124. Uçar, G. et Balaban Uçar, M. (2014). Geographical variation in the composition of *Abies bornmuelleriana* Matff. Needle oils. *Records of Natural Products*, 8(1), 56-60.
125. Li, Y.L., Yang, X.W., Li, S.M., Shen, Y.H., Zeng, H.W., Liu, X.H., Tang, J. et Zhang, W.D. (2009). Terpenoid constituents of *Abies chensiensis* with potential anti-inflammatory activity. *Journal of Natural Products*, 72(6), 1065-1068. <http://dx.doi.org/10.1021/np800790h>
126. Zavarin, E. (1968). Chemotaxonomy of the genus *Abies*-II. Within tree variation of the terpenes in cortical oleoresin. *Phytochemistry*, 7(1), 99-107.
127. Wagner, M.R., Clancy, K.M. et Tinus, R.W. (1989). Maturational variation in needle essential oils from *Pseudotsuga menziesii*, *Abies concolor* and *Picea engelmannii*. *Phytochemistry*, 28(3), 765-770.
128. Kaneko, N., Hasegawa, S. et Hirose, Y. (1985). Terpenoids from seeds of *Abies firma*. *Phytochemistry*, 24(1), 185-186.
129. Satou, T., Matsuura, M., Takahashi, M., Murakami, S., Hayashi, S., Sadamoto, K. et Koike, K. (2011). Components of essential oils extracted from leaves and shoots of *Abies* species in Japan. *Chemistry and Biodiversity*, 8(6), 1132-1138. <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.201000254>
130. Sutton, B.A., Woosley, R.S. et Butcher, D.J. (1997). Determination of monoterpenes in oleoresin: A chemosystematic study of the interaction between Fraser fir (*Abies fraseri*) and balsam woolly adelgid (*Adelges piceae*). *Microchemical Journal*, 56(3), 332-342.
131. Vereen, D.A., McCall, J.P. et Butcher, D.J. (2000). Solid phase microextraction for the determination of volatile organics in the foliage of Fraser fir (*Abies fraseri*). *Microchemical Journal*, 65(3), 269-276. [http://dx.doi.org/10.1016/s0026-265x\(00\)00122-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0026-265x(00)00122-3)
132. Vereen, D.A. (2000). Solid phase micro-extraction (SPME) for the determination of volatile chemicals in Fraser fir (*Abies fraseri*) and red spruce (*Picea rubens*) tissue. *Microchemical Journal*, 65(3), 269-276.
133. Titova, T.F., Khan, V.A., Bol'shakova, V.I., Demenkova, L.I., Dubovenko, Z.V. et Pentegova, V.A. (1980). Mono- and sesquiterpenoids of the oleoresins of *Abies sachalinensis*, *A. mayriana*, and *A. gracilis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 16(2), 150-153. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00638774>
134. Lewinsohn, E., Savage, T.J., Gijzen, M. et Croteau, R. (1993). Simultaneous analysis of monoterpenes and diterpenoids of conifer oleoresin. *Phytochemical Analysis*, 4, 220-225.
135. Li, S.X., Chen, Y.D., Yang, L. et Cui, N.H. (1982). Study on the chemical constituents of the needle oil of *Abies holophylla* Maxim. *Linchan Hua Hsueh Yu Gong Yi*, 2, 36-41.

136. Baran, S., von Reuss, S.H., König, W.A. et Kalembe, D. (2007). Composition of the Essential oil of *Abies koreana* Wils. *Flavour and Fragrance Journal*, 22(1), 78-83. <http://dx.doi.org/10.1002/ffj.1762>
137. Jeong, S.I., Lim, J.P. et Jeon, H. (2007). Chemical composition and antibacterial activities of the essential oil from *Abies koreana*. *Phytotherapy Research*, 21(12), 1246-1250. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.2229>
138. Kim, K., Bu, Y., Jeong, S., Lim, J., Kwon, Y., Cha, D.S., Kim, J., Jeon, S., Eun, J. et Jeon, H. (2006). Memory-enhancing effect of a supercritical carbon dioxide fluid extract of the needles of *Abies koreana* on scopolamine-induced amnesia in mice. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 70(8), 1821-1826. <http://dx.doi.org/10.1271/bbb.50608>
139. Oh, H.J., Ann, H.M., So, K.H., Kim, S.S., Yun, P.Y., Jeon, G.L. et Riu, K.Z. (2007). Chemical and antimicrobial properties of essential oils from three coniferous trees *Abies koreana*, *Cryptomeria japonica*, and *Torreya nucifera*. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 50, 164-169.
140. Yoon, W.J., Kim, S.S., Oh, T.H., Lee, N.H. et Hyun, C.G. (2009). *Abies koreana* essential oil inhibits drug-resistant skin pathogen growth and lps-induced inflammatory effects of murine macrophage. *Lipids*, 44(5), 471-476. <http://dx.doi.org/10.1007/s11745-009-3297-3>
141. Zavarin, E., Critchfield, W.B. et Snajberk, K. (1971). Composition of the cortical and phloem monoterpenes of *Abies lasiocarpa*. *Phytochemistry*, 10(12), 3229-3237.
142. Smedman, L.Å., Zavarin, E. et Teranishi, R. (1969). Composition of oxygenated monoterpenoids and sesquiterpenoid hydrocarbons from the cortical oleoresin of *Abies magnifica* A. Murr. *Phytochemistry*, 8(8), 1457-1470.
143. Bazdi, B., Oller-López, J.L., Cuerva, J.M., Oltra, J.E. et Mansour, A.I. (2006). Composition of the essential oil from the seeds of *Abies marocana*. *Journal of Essential Oil Research*, 18(2), 160-161.
144. Shmidt, E.N., Subovenko, Z.V., Tagil'tsev, Y.G. et Pentegova, V.A. (1977). Chemical composition of the monoterpenes and resin acids of the oleoresin of Far-Eastern species of fir. *Chemistry of Natural Compounds*, 13(1), 107-108. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00566192>
145. Holm, Y., Laakso, I. et Hiltunen, R. (1994). The enantiomeric composition of monoterpene hydrocarbons as a chemotaxonomic marker in *Abies sachalinensis* (Fr. Schm.) Mast. and *A. mayriana* Miy. et Kudo needle essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 9(5), 223-227. <http://dx.doi.org/10.1002/ffj.2730090504>
146. Khan, V.A., Pankrushina, N.A., Gatilov, Y.V., Bagryanskaya, I.Y., Dudovenko, Z.V. et Pentegova, V.A. (1985). Mono- and sesquiterpenoids of the oleoresin of *Abies nephrolepis*. Crystal structure of (+)- β -cedrol. *Chemistry of Natural Compounds*, 21(1), 38-41. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00574245>
147. Jiang, Z. et Li, R. (1988). Chemical constituents of the essential oil from twigs and bark of *Abies nephrolepis* (TRAUTV.) MAXIM. *Chem. Abstr.*, 111
148. Yu, E.J., Kim, T.H., Kim, K.H. et Lee, H.J. (2004). Characterization of aroma-active compounds of *Abies nephrolepis* (Khingan fir) needles using aroma extract dilution analysis. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(1), 74-79. <http://dx.doi.org/10.1002/ffj.1314>
149. Shmidt, E.N., Khan, V.A., Isaeva, Z.A., Drebuschak, T.D., Dubovenko, Z.V., Kemertelidze, E.P. et Pentegova, V.A. (1982). Terpenoids of the oleoresins of *Picea orientalis* and *Abies normanniana* growing in the Caucasus. *Chemistry of Natural Compounds*, 18(2), 173-176.
150. Kawai, K., Takahashi, C., Miyamoto, T., Numata, A., Iwabuchi, H. et Yoshikura, M. (1993). Chemical differences between two populations of *Abies sachalinensis*. *Phytochemistry*, 32(2), 331-334.

151. Satou, T., Matsuura, M., Takahashi, M., Umezu, T., Hayashi, S., Sadamoto, K. et Koike, K. (2011). Anxiolytic-like effect of essential oil extracted from *Abies sachalinensis*. *Flavour and Fragrance Journal*, 26(6), 416-420. <http://dx.doi.org/10.1002/ffj.2075>
152. Khan, V.A., Pankrushina, N.A., Shmidt, E.N., Dubovenko, Z.V. et Pentegova, V.A. (1984). Terpenoids of the oleoresin of *Abies semenovii*. *Chemistry of Natural Compounds*, 20(1), 115-116. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00574818>
153. Morozova, S.S., Katyuzhanskaya, A.N., Pekhov, A.V., Koshevoi, E.P. et Mikhailova, N.S. (1976). Development of a method for determining bornyl acetate in the products of the processing of *Abies sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 12(3), 269-272. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00567794>
154. Chernyaeva, G.N. et Barakov, T.V. (1983). Seasonal dynamics of the essential oil of *Abies sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 19(6), 682-684. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00575168>
155. Titova, T.F., Khan, V.A., Dubovenko, Z.V. et Pentegova, V.A. (1987). Oxygen-containing mono- and sesquiterpenoids of the oleoresin of *Abies sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 23(3), 386-387. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00600860>
156. Koedam, A., Scheffer, J.J.C. et Svendsen, A.B. (1980). Monoterpenes in the volatile leaf oil of *Abies × arnoldiana* Nitz. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(4), 862-866.
157. Khan, V.A., Tkachev, A.V. et Pentegova, V.A. (1988). New sesquiterpenoids from the oleoresin of *Abies alba*. *Chemistry of Natural Compounds*, 24(5), 606-611. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00633390>
158. Khan, V.A. et Pentegova, V.A. (1988). Volatile components of the oleoresin of *Abies alba*. *Chemistry of Natural Compounds*, 24(2), 162-166. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00596742>
159. Bowers, W.S., Fales, H.M., Thompson, M.J. et Uebel, E.C. (1966). Juvenile hormone: Identification of an active compound from balsam fir. *Science*, 154(3752), 1020-1021.
160. Manville, J.F. (1975). Juvabione and its analogs. Juvabione and delta-4-dehydrojuvabione isolated from the whole wood of *Abies balsamea*, have the R,R stereoconfiguration, not R,S. *Canadian Journal of Chemistry*, 53, 1579-1585.
161. Manville, J.F. (1976). Juvabione and its analogues. II. Isolation, identification, and occurrence of juvabiol and its epimer isojuvabiol from the whole wood of *Abies balsamea*. *Canadian Journal of Chemistry*, 54(15), 2365-2371.
162. Manville, J.F. et Tracey, A.S. (1989). Chemical differences between alpine firs of British Columbia. *Phytochemistry*, 28(10), 2681-2686.
163. Yang, X.W., Ding, Y., Li, X.C., Ferreira, D., Shen, Y.H., Li, S.M., Wang, N. et Zhang, W.D. (2009). Cycloabiesesquene A, a unique sesquiterpenoid from *Abies delavayi*. *Chemical Communications*(25), 3771-3773. <http://dx.doi.org/10.1039/b905710b>
164. Yang, X.W., Li, S.M., Li, Y.L., Xia, J.H., Wu, L., Shen, Y.H., Tian, J.M., Wang, N., Liu, Y. et Zhang, W.D. (2010). Abiespiroside A, an unprecedented sesquiterpenoid spiro lactone with a 6/6/5 ring system from *Abies delavayi*. *European Journal of Organic Chemistry*, 2010(34), 6531-6534. <http://dx.doi.org/10.1002/ejoc.201001203>
165. Xia, J.H., Zhang, S.D., Li, Y.L., Wu, L., Zhu, Z.J., Yang, X.W., Zeng, H.W., Li, H.L., Wang, N., Steinmetz, A. et Zhang, W.D. (2012). Sesquiterpenoids and triterpenoids from *Abies holophylla* and their bioactivities. *Phytochemistry*, 74, 178-184. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.11.011>
166. Manville, J.F. et Kriz, C.D. (1977). Juvabione and its analogues. IV. Isolation, identification, and occurrence of juvabione, juvabiol, and epijuviol from the whole wood of *Abies lasiocarpa*. *Canadian Journal of Chemistry*, 55(13), 2547-2553.

167. Smedman, L. et Zavarin, E. (1968). Cyclosativene - a tetracyclic sesquiterpene *Abies magnifica* Murray. *Tetrahedron Letters*, 9(35), 3833-3835.
168. Barrero, A.F., Sanchez, J.F., Alvarez-Manzaneda, E.J., Muñoz, M. et Haïdour, A. (1992). Diterpenoids and cyclolanostanolides from *Abies marocana*. *Phytochemistry*, 31(2), 615-620.
169. Barrero, A.F., Sanchez, J.F., Alvarez-Manzaneda, E.J., Dorado, M.M. et Haidour, A. (1994). Terpenoids of the wood of *Abies marocana*. *Phytochemistry*, 35(5), 1271-1274. [http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)94835-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422(00)94835-0)
170. Sakar, M.K., Ercil, D., Del Olmo, E. et San Feliciano, A. (1999). Constituents of *Abies nordmanniana* ssp. *bornmuelleriana*. *Fitoterapia*, 70(1), 103-105. [http://dx.doi.org/10.1016/s0367-326x\(98\)00026-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0367-326x(98)00026-4)
171. Barrero, A.F., Sanchez, J.F., Alvarez-Manzaneda R, E.J. et Dorado, M.M. (1989). Sesquiterpenoids related to juvabione in *Abies pinsapo*. *Phytochemistry*, 28(10), 2617-2619.
172. Barrero, A.F., Sanchez, J.F., Alvarez-Manzaneda, E.J., Dorado, M.M. et Haidour, A. (1993). Terpenoids and sterols from the wood of *Abies pinsapo*. *Phytochemistry*, 32(5), 1261-1265.
173. Numata, A., Kawai, K. et Takahashi, C. (1990). Juvabione analogs from *Abies sachalinensis* (Fr. Schm.) Mast. II. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 38(9), 2570-2573.
174. Yoneyama, S., Togashi, I., Oikawa, H. et Aoyama, M. (1990). An antifungal substance in the volatile wood-oil of todomatsu, *Abies sachalinensis* mast. *Mokuzai Gakkaishi*, 36, 777-780.
175. Kawai, K., Takahashi, C., Takada, T. et Numata, A. (1993). Juvabione analogues from two *Abies sachalinensis* trees. *Phytochemistry*, 32(5), 1163-1165.
176. Wang, G.R., Li, Y.L., Zhang, W.D., Yang, X.W., Liu, W.C., Ye, J., Zhu, Z.J. et Chen, H. (2012). Cytotoxic terpenes from *Abies sibirica*. *Chinese Chemical Letters*, 23(11), 1251-1253. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cclet.2012.09.013>
177. Ribo, J.M., Mitja, M.R. et Ramentol, J. (1974). Diterpenoids in *Abies alba*. *Phytochemistry*, 13(8), 1614.
178. Ribo, J.M., Raventos, J.U. et Serra, A.M. (1977). Kohlenwasserstoffe in zwei *Abies* arten. *Phytochemistry*, 16(6), 767.
179. Bol'shakova, V.I., Demenkova, L.I., Shmidt, E.N. et Pentegova, V.A. (1988). Neutral diterpenoids of oleoresins of five species of conifers of Transcarpathia. *Chemistry of Natural Compounds*, 24(6), 691-694.
180. Beri, R.M. et Lemon, H.W. (1970). Chemical examination of the wax from needles of black spruce (*Picea mariana*) and balsam fir (*Abies balsamea*). *Canadian Journal of Chemistry*, 48(1), 67-69.
181. Gray, P.S. et Mills, J.S. (1964). The isolation of abienol from Canada Balsam, the Oleoresin of *Abies balsamea* (L.) Mill. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 5822-5825.
182. Lavoie, S., Gauthier, C., Legault, J., Mercier, S., Mshvildadze, V. et Pichette, A. (2013). Lanostane- and cycloartane-type triterpenoids from *Abies balsamea* oleoresin. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 9, 1333-1339. <http://dx.doi.org/10.3762/bjoc.9.150>
183. Hasegawa, S., Kaneko, N. et Hirose, Y. (1987). Triterpenes from the seed of *Abies firma*. *Phytochemistry*, 26(4), 1095-1099.
184. Yang, X.W., Li, S.M., Feng, L., Shen, Y.H., Tian, J.M., Liu, X.H., Zeng, H.W., Zhang, C. et Zhang, W.D. (2008). Abiesanordines A-N: fourteen new norditerpenes from *Abies georgei*. *Tetrahedron*, 64(19), 4354-4362.
185. Yang, X.W., Feng, L., Li, S.M., Liu, X.H., Li, Y.L., Wu, L., Shen, Y.H., Tian, J.M., Zhang, X., Liu, X.R., Wang, N., Liu, Y. et Zhang, W.D. (2010). Isolation, structure, and bioactivities of abiesadines A-Y, 25 new diterpenes from *Abies georgei* Orr. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 18(2), 744-754.

186. Barrero, A.F., Sanchez, J.F., Alvarez-Manzaneda, E.J., Dorado, R.M.M. et Haidour, A. (1991). Endoperoxide diterpenoids and other constituents from *Abies marocana*. *Phytochemistry*, 30(2), 593-597.
187. Hashi, M. (1961). Studies on natural resins. X. Acidic constituents in Balsam of *Abies sachalinensis* Mast. *Mokuzai Gakkaishi*, 7, 98.
188. Ohira, T. et Yatagai, M. (1994). Extractives from the bark of *Abies sachalinensis*. I. the efficient extraction of cis-abienol using supercritical carbon-dioxide. *Mokuzai Gakkaishi*, 40, 751-757.
189. Chirkova, M.A., Gorbunova, A.E., Lisina, A.I. et Pentegova, V.A. (1966). The neutral substances of the oleoresin of *Abies sibirica* - I. Oxygen-containing diterpene compounds. *Chemistry of Natural Compounds*, 2(2), 77-80. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00567539>
190. Chirkova, M.A., Dzizenko, A.K. et Pentegova, V.A. (1967). The neutral substances of the oleoresin of *Abies sibirica* - II. The structure of the diterpene hydroxy ketone. *Chemistry of Natural Compounds*, 3(2), 71-74. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00567170>
191. Chirkova, M.A. et Pentegova, V.A. (1969). Neutral substances of the oleoresin of *Abies sibirica* - II. Structure of neoabienol. *Chemistry of Natural Compounds*, 5(4), 210-212. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00683834>
192. Leibyuk, T.V., Shevtsov, S.A. et Raldugin, V.A. (1991). Diterpene endoperoxides from the needles of *Abies sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 26(4), 474-475. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00599019>
193. Raldugin, V.A., Grishko, V.V., Kukina, T.P., Druganov, A.G. et Shakirov, M.M. (2005). 18-Succinyloxyabieta-8,11,13-triene as a new component from green shoots of the Siberian fir. *Russian Chemical Bulletin*, 54(7), 1747-1748. <http://dx.doi.org/10.1007/s11172-006-0033-5>
194. Muller, J.C. et Ourisson, G. (1974). A new relative of grandisolide from the needles of *Abies alba*. *Phytochemistry*, 13(8), 1615-1616.
195. Steglich, W., Klar, M., Zechlin, L. et Hecht, H.J. (1979). Abietospiran, the Triterpene from the Bark of the White Fir (*Abies alba*). *Angewandte Chemie International Edition in English*, 18(9), 698.
196. Leibyuk, T.V., Shmidt, E.N. et Raldugin, V.A. (1990). Triterpenoids from *Abies* species X. Two new 3,4-secotriterpene acids from the oleoresin of the silver fir. *Chemistry of Natural Compounds*, 26(6), 651-655.
197. O'Neill, J.A., Gallagher, O.P., Devine, K.J., Jones, P.W. et Maguire, A.R. (2005). Desmethylobietospiran, a naturally occurring self-gelation agent. *Journal of Natural Products*, 68(1), 125-128. <http://dx.doi.org/10.1021/np049816u>
198. Lavoie, S., Legault, J., Gauthier, C., Mshvildadze, V., Mercier, S. et Pichette, A. (2012). Abibalsamins A and B, Two New Tetraterpenoids from *Abies balsamea* Oleoresin. *Organic Letters*, 14(6), 1504-1507. <http://dx.doi.org/10.1021/ol300237f>
199. Li, Y.L., Zhang, S.D., Jin, H.Z., Tian, J.M., Shen, Y.H., Yang, X.W., Li, H.L. et Zhang, W.D. (2012). Abiestetranes A and B, two unique tetraterpenes from *Abies fabri*. *Tetrahedron*, 68(38), 7763-7767. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2012.07.047>
200. Hasegawa, S., Miura, T., Kaneko, N., Hirose, Y. et Iitaka, Y. (1987). Further new rearranged lanostanoids from the seeds of *Abies mariesii* and *A. firma*. *Tetrahedron*, 43(8), 1775-1784.
201. Tanaka, R. et Matsunaga, S. (1991). Triterpene lactones from the stem bark of *Abies firma*. *Phytochemistry*, 30(6), 1983-1987.
202. Yang, X.W., Li, S.M., Wu, L., Li, Y.L., Feng, L., Shen, Y.H., Tian, J.M., Tang, J., Wang, N., Liu, Y. et Zhang, W.D. (2010). Abiesatrines A-J: Anti-inflammatory and antitumor triterpenoids from *Abies georgei* Orr. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 8(11), 2609-2616. <http://dx.doi.org/10.1039/c001885f>

203. Allen, F.H., Kutney, J.P., Trotter, J. et Westcott, N.D. (1971). The structures and absolute stereochemistry of cyclograndisolide and epicyclograndisolide, novel triterpene lactones from *Abies grandis*. *Tetrahedron Letters*, 12(3), 283-286.
204. Kutney, J.P., Grierson, D.S., Knowles, G.D., Westcott, N.D. et Rogers, I.H. (1973). Studies on constituents of *Abies grandis*. The structures and absolute stereochemistry of cyclograndisolide and epicyclograndisolide, novel cyclopropane triterpene lactones. *Tetrahedron*, 29(1), 13-20.
205. Kim, H.J., Choi, E.H. et Lee, I.S. (2004). Two lanostane triterpenoids from *Abies koreana*. *Phytochemistry*, 65(18), 2545-2549.
206. Uyeo, S., Okada, J., Matsunaga, S. et Rowe, J.W. (1968). The structure and the stereochemistry of abieslactone. *Tetrahedron*, 24(7), 2859-2880.
207. Hasegawa, S., Miura, T., Hirose, Y. et Iitaka, Y. (1985). A new rearranged lanostanoid, mariesiic acid A, from the seeds of *Abies mariesii*. *Chemistry Letters*, 1589-1592.
208. Tanaka, R., Mizota, T. et Matsunaga, S. (1994). Saturated gammaceranes from the stem bark of *Abies mariesii*. *Journal of Natural Products*, 57(6), 761-766. <http://dx.doi.org/10.1021/np50108a012>
209. Tanaka, R., Aoki, H., Wada, S.I. et Matsunaga, S. (1999). Two novel lanostane-type triterpenes from the stem bark of *Abies mariesii*. *Journal of Natural Products*, 62(1), 198-200. <http://dx.doi.org/10.1021/np9803474>
210. Tanaka, R., Aoki, H., Mizota, T., Wada, S.I., Matsunaga, S., Tokuda, H. et Nishino, H. (2000). Three new lanostane-type triterpene lactones from the stem bark of *Abies mariesii*. *Planta Medica*, 66(2), 163-168. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2000-11130>
211. Tanaka, R., Wada, S.I., Aoki, H., Matsunaga, S. et Yamori, T. (2004). Spiromarienonols A and B: Two New 7(8→9)abeo-Lanostane-Type Triterpene Lactones from the Stem Bark of *Abies mariesii*. *Helvetica Chimica Acta*, 87(1), 240-249. <http://dx.doi.org/10.1002/hlca.200490011>
212. Tripathi, M., Jain, L., Pandey, V.B., Ray, A.B. et Rücker, G. (1996). Pindrolactone, a lanostane derivative from the leaves of *Abies pindrow*. *Phytochemistry*, 43(4), 853-855. [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(96\)00368-8](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(96)00368-8)
213. Li, Y.L., Gao, Y.X., Yang, X.W., Jin, H.Z., Ye, J., Simmons, L., Wang, N., Steinmetz, A. et Zhang, W.D. (2012). Cytotoxic triterpenoids from *Abies recurvata*. *Phytochemistry*, 81, 159-164. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.05.032>
214. Kuroyanagi, M., Sugiyama, K., Kanazawa, M. et Kawahara, N. (2000). Novel A-seco-rearranged lanostane triterpenoids from *Abies sachalinensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 48(12), 1917-1920.
215. Wada, S.I., Iida, A. et Tanaka, R. (2002). Triterpenoid constituents isolated from the bark of *Abies sachalinensis*. *Journal of Natural Products*, 65(11), 1657-1659.
216. Sun, B., Hou, B., Huang, J., Wu, L., Kuroyanagi, M. et Gao, H. (2008). Two novel A-seco-rearranged lanostane triterpenoids from *Abies sachalinensis*. *Archives of Pharmacal Research*, 31(12), 1530-1533. <http://dx.doi.org/10.1007/s12272-001-2146-6>
217. Gao, H.Y., Wu, L.J., Nakane, T., Shiota, O. et Kuroyanagi, M. (2008). Novel lanostane and rearranged lanostane-type triterpenoids from *Abies sachalinensis* - II. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56(4), 554-558. <http://dx.doi.org/10.1248/cpb.56.554>
218. Gao, H.Y., Huang, J., Sun, B.H., Kuroyanagi, M. et Wu, L.J. (2008). Two new lanostane triterpenoids from *Abies sachalinensis*. *Chinese Chemical Letters*, 19(12), 1447-1449. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccllet.2008.09.035>

219. Gao, H.Y., Wu, L.J., Nakane, T., Shiota, O. et Kuroyanagi, M. (2008). Rearranged lanostane triterpenoids from *Abies sachalinensis* (III). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56(9), 1352-1354. <http://dx.doi.org/10.1248/cpb.56.1352>
220. Raldugin, V.A., Gatilov, Y.V., Bagryanskaya, I.Y. et Yaroshenko, N.I. (1986). Triterpenoids from *Abies* species. I. Abiesonic acid - A triterpenoid with a new carbon skeleton from the oleoresin of *Abies sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 22(5), 548-552.
221. Raldugin, V.A., Gatilov, Y.V., Rybalova, T.V. et Rashkes, Y.V. (1986). Triterpenoids from species of *Abies* Hill. II. Abiesolidic acid - A new 3,4-secolanostanoid from the oleoresin of *Abies sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 22(6), 645-651.
222. Roshchin, V.I., Raldugin, V.A., Baranova, R.A. et Pentegova, V.A. (1986). New triterpene acids from *Abies sibirica* needles. *Chemistry of Natural Compounds*, 22(5), 613-614.
223. Raldugin, V.A., Kukina, T.P., Yaroshenko, N.I. et Pentegova, V.A. (1987). Triterpenoids from *Abies* species. III. 24-Methylene-3,4-secocycloart-4(28)-en-3-dic acid from the needles of *Abies sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 23(2), 259. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00598782>
224. Raldugin, V.A., Shevtsov, S.A., Yaroshenko, N.I., Gatilov, Y.V., Bagryanskaya, I.Y., Demenkova, L.I. et Pentegova, V.A. (1987). Triterpenoids from *Abies* species. IV. New triterpene acids from the needles of *Abies sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 23(6), 684-690.
225. Raldugin, V.A., Shevtsov, S.A., Roshchin, V.I. et Pentegova, V.A. (1988). Triterpenoids from *Abies* spp. VI. "Isofirmanic" and (24E)-lanosta-8,24-diene-3,23-dion-26-oic acids from Siberian fir needles. *Chemistry of Natural Compounds*, 24(6), 694-698. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00598186>
226. Raldugin, V.A., Shevtsov, S.A., Shakirov, M.M., Roshchin, V.I. et Pentegova, V.A. (1989). Triterpenoids from *Abies* species VII. New lanostane lactones from Siberian fir needles. *Chemistry of Natural Compounds*, 25(2), 176-181. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00598406>
227. Shevtsov, S.A. et Raldugin, V.A. (1989). Triterpenoids from *Abies* species - VIII. A new methoxymariesionoid and two 3,4-secomariesianoids from *Abies sibirica* needles. *Chemistry of Natural Compounds*, 25(2), 182-187.
228. Yaroshenko, N.I. et Raldugin, V.A. (1989). Triterpenoids from *Abies* sp. IX. Triterpene lactones from *Abies sibirica* bark. *Chemistry of Natural Compounds*, 25(2), 188-192. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00598408>
229. Raldugin, V.A., Shakirov, M.M., Leibyuk, T.V. et Shevtsov, S.A. (1991). Triterpenoids from *Abies* species - XII. (24Z)- and (24E)-8(14→13)-abeo-17,13-friedo-lanosta-8,14(30),24-triene-3,23-dion-26-oic acids - New triterpenoids from the needles of the Siberian fir. *Chemistry of Natural Compounds*, 27(4), 444-449. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00636565>
230. Grishko, V.V., Bagryanskaya, I.Y., Gatilov, Y.V., Shakirov, M.M. et Raldugin, V.A. (1996). Triterpenoids from *Abies* sp. 16. Preparation and crystal structure of a new trinorlanostanoid. *Russian Chemical Bulletin*, 45(3), 709-712.
231. Grishko, V.V., Shakirov, M.M., Bagryanskaya, I.Y., Gatilov, Y.V. et Raldugin, V.A. (1996). Triterpenoids from *Abies* sp. 17. Detection of stereoselective ethyldienation of ring A on the alkali fragmentation of 3,23-dioxo-7,24-lanostadien-26-oic acids. *Russian Chemical Bulletin*, 45(3), 713-716.
232. Raldugin, V.A., Shakirov, M.M., Kukina, T.P. et Druganov, A.G. (1996). Triterpenoids from *Abies* species 19. (22Z)-3 α -hydroxy-17,14-fridolanosta-7,14,22,24-tetraen-26,23-olide, a new lactone from the needles of the Siberian fir. *Russian Chemical Bulletin*, 45(11), 2651-2653.

233. Grishko, V.V., Shakirov, M.M. et Raldugin, V.A. (1996). Triterpenoids from *Abies* species 20. Identification of new trinortriterpene methyl ketones in the products of alkaline degradation of total acids of *Abies sibirica* needles. *Russian Chemical Bulletin*, 45(12), 2847-2849.
234. Grishko, V.V., Druganov, A.G., Shakirov, M.M. et Raldugin, V.A. (1998). Triterpenoids from *Abies* species 22. Isolation of the cyclic tautomer of (24Z)-3,23-dioxolanosta-8,24-dien-26-oic acid, a new component of the acidic fraction of the extract from Siberian fir needle. *Russian Chemical Bulletin*, 47(3), 502-504.
235. Kukina, T.P., Shakirov, M.M. et Raldugin, V.A. (1998). Triterpenoids from *Abies* species 23. A lanostane analog of cytotoxic cycloartanolide and other lactones from needle-free shoots of Siberian fir. *Russian Chemical Bulletin*, 47(10), 2009-2011.
236. Korolev, K.G., Lomovskii, O.I., Rozhanskaya, O.A. et Vasil'ev, V.G. (2003). Mechanochemical preparation of water-soluble forms of triterpene acids. *Chemistry of Natural Compounds*, 39(4), 366-372.
<http://dx.doi.org/10.1023/B:CONC.0000003418.28517.f6>
237. Tanaka, R. et Matsunaga, S. (1990). Veitchiolide, a tetracyclic triterpene lactone from *Abies veitchii*. *Phytochemistry*, 29(10), 3267-3269. [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)80197-o](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(90)80197-o)
238. Tanaka, R. et Matsunaga, S. (1991). 9 β -Lanostane-type triterpene lactones from the stem bark of *Abies veitchii*. *Journal of Natural Products*, 54(5), 1337-1344.
239. Tanaka, R. et Matsunaga, S. (1992). Saturated hopane and gammacerane triterpene-diols from the stem bark of *Abies veitchii*. *Phytochemistry*, 31(10), 3535-3539.
240. Tanaka, R., Usami, Y., In, Y., Ishida, T., Shingu, T. et Matsunaga, S. (1992). The structure of spiroveitchionolide, an unusual lanostane-type triterpene lactone from *Abies veitchii*. *Journal of the Chemical Society - Series Chemical Communications*(18), 1351-1352.
241. Nawaz, H.R., Malik, A. et Ali, M.S. (2001). Trianthanol: An antifungal tetraterpenoid from *Trianthema portulacastrum* (Aizoaceae). *Phytochemistry*, 56(1), 99-102.
242. Metzger, P., Rager, M.N., Sellier, N. et Largeau, C. (2003). Lycopanerols I-L, four new tetraterpenoid ethers from *Botryococcus braunii*. *Journal of Natural Products*, 66(6), 772-778.
243. Hirschberg, J., Cohen, M., Harker, M., Lotan, T., Mann, V. et Pecker, I. (1997). Molecular genetics of the carotenoid biosynthesis pathway in plants and algae. *Pure and Applied Chemistry*, 69(10), 2151-2158.
244. Zeng, L.M., Lan, W.J., Su, J.Y., Zhang, G.W., Feng, X.L., Liang, Y.J. et Yang, X.P. (2004). Two new cytotoxic tetracyclic tetraterpenoids from the soft coral *Sarcophyton tortuosum*. *Journal of Natural Products*, 67(11), 1915-1918.
245. Zhang, Y., Lu, Y., Mao, L., Proksch, P. et Lin, W. (2005). Tagalsins I and J, two novel tetraterpenoids from the mangrove plant, *Ceriops tagal*. *Organic letters*, 7(14), 3037-3040.
246. Lan, W.J., Li, H.J., Yan, S.J., Su, J.Y. et Zeng, L.M. (2007). New tetraterpenoid from the soft coral *Sarcophyton tortuosum*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 9(3), 267-271.
247. He, R., Zou, B., Fang, H., Zhang, Y. et Wu, Y. (2013). Free radical scavenging activities of β -sitosterol extracted from *Abies yuanbaoshanensis*. *Asian Journal of Chemistry*, 25(6), 3507-3508.
248. Balogh, B., Wilson, D.M., Burlingame, A.L., Jen Lee, C., Snajberk, K. et Zavarin, E. (1972). 4,4-Dimethyl-2-cyclohepten-1-one in the cortical oleoresin of *Abies balsamea*. *Phytochemistry*, 11(4), 1481-1484.
249. Little, C.H.A., Strunz, G.M., La France, R. et Bonga, J.M. (1972). Identification of abscisic acid in *Abies balsamea*. *Phytochemistry*, 11(12), 3535-3536.

250. Little, C.H.A., Andrew, D.M., Silk, P.J. et Strunz, G.M. (1979). Identification of cytokinins zeatin and zeatin riboside in *Abies balsamea*. *Phytochemistry*, 18(7), 1219-1220.
251. Singh, R.K., Pandey, B.L., Tripathi, M. et Pandey, V.B. (2001). Anti-inflammatory effect of (+)-pinitol. *Fitoterapia*, 72(2), 168-170. [http://dx.doi.org/10.1016/s0367-326x\(00\)00267-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0367-326x(00)00267-7)
252. McCune, L.M. et Johns, T. (2003). Symptom-specific antioxidant activity of boreal diabetes treatments. *Pharmaceutical Biology*, 41(5), 362-370.
253. Bağcı, E. et Diğrak, M. (1996). Antimicrobial activity of essential oils of some *Abies* (fir) species from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 11(4), 251-256. [http://dx.doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1026\(199607\)11:4<251::aid-ffj577>3.0.co;2-k](http://dx.doi.org/10.1002/(sici)1099-1026(199607)11:4<251::aid-ffj577>3.0.co;2-k)
254. Kiran, O.E., İlçim, A. et Digrak, M. (2010). Antifungal activity against *Phytophthora capsici* leon which causes root neck burn in pepper around Kahramanmaras. *Asian Journal of Chemistry*, 22(1), 468-474.
255. Eming, S.A., Krieg, T. et Davidson, J.M. (2007). Inflammation in wound repair: Molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(3), 514-525.
256. Dinarello, C.A. (2010). Anti-inflammatory Agents: Present and Future. *Cell*, 140(6), 935-950.
257. Yang, X.W., Zeng, H.W., Liu, X.H., Li, S.M., Xu, W., Shen, Y.H., Zhang, C. et Zhang, W.D. (2008). Anti-inflammatory and anti-tumour effects of *Abies georgei* extracts. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60(7), 937-941. <http://dx.doi.org/10.1211/jpp.60.7.0017>
258. Takayasu, J., Tanaka, R., Matsunaga, S., Ueyama, H., Tokuda, H., Hasegawa, T., Nishino, A., Nishino, H. et Iwashima, A. (1990). Anti-tumor-promoting activity of derivatives of abieslactone, a natural triterpenoid isolated from several *Abies* genus. *Cancer Letters*, 53(2-3), 141-144.
259. Canadian Cancer Society's Advisory Committee on Cancer Statistics. *Canadian Cancer Statistics 2013*. (2013). Toronto, ON: Canadian Cancer Society.
260. Mohamad, H., Abas, F., Permana, D., Lajis, N.H., Ali, A.M., Sukari, M.A., Hin, T.Y.Y., Kikuzaki, H. et Nakatani, N. (2004). DPPH free radical scavenger components from the fruits of *Alpinia rafflesiana* Wall. ex. Bak. (Zingiberaceae). *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 59(11-12), 811-815.
261. Nayak, S.S., Ghosh, A.K., Srikanth, K., Debnath, B. et Jha, T. (2003). Antitussive activity of *Abies webbiana* Lindl. Leaf extract against sulphur dioxide-induced cough reflex in mice. *Phytotherapy Research*, 17(8), 930-932. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.1263>
262. Nayak, S.S., Ghosh, A.K., Debnath, B., Vishnoi, S.P. et Jha, T. (2004). Synergistic effect of methanol extract of *Abies webbiana* leaves on sleeping time induced by standard sedatives in mice and anti-inflammatory activity of extracts in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(2-3), 397-402. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2004.04.014>
263. Kubitzki, K. (2004). *Cornaceae Flowering Plants. Dicotyledons* : Springer.
264. Qiuyun, X. et Boufford, D.E. (2005). *Cornaceae Flora of China* (Vol. 14, p. 206-221).
265. Eyde, R.H. (1988). Comprehending *Cornus*: Puzzles and progress in the systematics of the dogwoods. *The Botanical Review*, 54(3), 233-351. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02868985>
266. Gucker, C.L. (2012). *Cornus canadensis Fire Effects Information System*. [Online] : U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Fire Sciences Laboratory.
267. Hong, S.Y., Jeong, W.S. et Jun, M. (2012). Protective effects of the key compounds isolated from *Corni fructus* against β -amyloid-induced neurotoxicity in PC12 cells. *Molecules*, 17(9), 10831-10845. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules170910831>
268. Kwon, S.H., Park, H.Y., Kim, J.Y., Jeong, I.Y., Lee, M.K. et Seo, K.I. (2010). Apoptotic action of ursolic acid isolated from *Corni fructus* in RC-58T/h/SA#4 primary human prostate

- cancer cells. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20(22), 6435-6438. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.09.073>
269. Deng, S., West, B.J. et Jensen, C.J. (2013). UPLC-TOF-MS characterization and identification of bioactive iridoids in *Cornus mas* fruit. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2013 <http://dx.doi.org/10.1155/2013/710972>
270. Pawlowska, A.M., Camangi, F. et Braca, A. (2010). Quali-quantitative analysis of flavonoids of *Cornus mas* L. (Cornaceae) fruits. *Food Chemistry*, 119(3), 1257-1261. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.063>
271. Chinese Medicine Division, D.o.H., Government of the Hong Kong Special Administrative Region. (2012). *Corni fructus Hong Kong Chinese Materia Medica Standards* (Vol. 4, p. 99-109). Hong Kong : Chinese Medicine Division, Department of Health, Government of the Hong Kong Special Administrative Region.
272. Celik, S., Bakrc, I. et Şat, I.G. (2006). Physicochemical and organoleptic properties of yogurt with cornelian cherry paste. *International Journal of Food Properties*, 9(3), 401-408. <http://dx.doi.org/10.1080/10942910600596258>
273. Krośniak, M., Gasto, M., Szalkowski, M., Zagrodzki, P. et Derwisz, M. (2010). Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) juices as a source of minerals in human diet. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, 73(17-18), 1155-1158. <http://dx.doi.org/10.1080/15287394.2010.491408>
274. Bjorøy, Ø., Fossen, T. et Andersen, Ø.M. (2007). Anthocyanin 3-galactosides from *Cornus alba* 'Sibirica' with glucosidation of the B-ring. *Phytochemistry*, 68(5), 640-645. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.11.028>
275. Du, C.T., Wang, P.L. et Francis, F.J. (1974). Anthocyanins of Cornaceae, *Cornus canadensis*. *Phytochemistry*, 13(9), 2002.
276. Bain, J.F. et Denford, K.E. (1979). The flavonoid glycosides of *Cornus canadensis* L. and its allies in Northwestern North America. *Experientia*, 35(7), 863-864.
277. Jensen, S.R., Kjær, A. et Nielsen, B.J. (1973). Glucosides in *Cornus capitata* and *C. Kousa*. *Phytochemistry*, 12(9), 2301.
278. Bhakuni, R.S., Shukla, Y.N. et Thakur, R.S. (1986). Constituents of *Cornus capitata*. *Journal of Natural Products*, 49(4), 714.
279. Tanaka, N., Tanaka, T., Fujioka, T., Fujii, H., Mihashi, K., Shimomura, K. et Ishimaru, K. (2001). An ellagic compound and iridoids from *Cornus capitata* root cultures. *Phytochemistry*, 57(8), 1287-1291. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00179-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00179-0)
280. Tanaka, N., Nishikawa, K. et Ishimaru, K. (2003). Antioxidative capacity of extracts and constituents in *Cornus capitata* adventitious roots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(20), 5906-5910. <http://dx.doi.org/10.1021/jf030267s>
281. Lee, D., Kang, S.J., Lee, S.H., Ro, J., Lee, K. et Kinghorn, A.D. (2000). Phenolic compounds from the leaves of *Cornus controversa*. *Phytochemistry*, 53(3), 405-407. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(99\)00502-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00502-6)
282. Seeram, N.P., Schutzki, R., Chandra, A. et Nair, M.G. (2002). Characterization, quantification, and bioactivities of anthocyanins in *Cornus* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(9), 2519-2523. <http://dx.doi.org/10.1021/jf0115903>
283. Ishimaru, K., Arakawa, H. et Neera, S. (1993). Polyphenol production in cell cultures of *Cornus kousa*. *Phytochemistry*, 32(5), 1193-1197.
284. Lee, D.Y., Song, M.C., Yoo, K.H., Bang, M.H., Chung, I.S., Kim, S.H., Kim, D.K., Kwon, B.M., Jeong, T.S., Park, M.H. et Baek, N.I. (2007). Lignans from the fruits of *Cornus kousa* Burg. and their cytotoxic effects on human cancer cell lines. *Archives of Pharmacal Research*, 30(4), 402-407.

285. Lee, D.Y., Yoo, K.H., Chung, I.S., Kim, J.Y., Chung, D.K., Kim, D.K., Kim, S.H. et Baek, N.I. (2008). A new lignan glycoside from the fruits of *Cornus kousa* Burg. *Archives of Pharmacal Research*, 31(7), 830-833. <http://dx.doi.org/10.1007/s12272-001-1233-2>
286. Lee, D.Y., Lee, M.H., Jung, T.S., Kwon, B.M., Baek, N.I. et Rho, Y.D. (2010). Triterpenoid and lignan from the fruits of *Cornus kousa* inhibit the activities of PRL-3 and LDL-Oxidation. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 53(1), 97-100. <http://dx.doi.org/10.3839/jksabc.2010.016>
287. Lee, S.Y., So, Y.J., Shin, M.S., Cho, J.Y. et Lee, J. (2014). Antibacterial effects of afzelin isolated from *Cornus macrophylla* on *Pseudomonas aeruginosa*, a leading cause of illness in immunocompromised individuals. *Molecules*, 19(3), 3173-3180. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules19033173>
288. Du, C.T. et Francis, F.J. (1973). Anthocyanins from *Cornus mas*. *Phytochemistry*, 12(10), 2487-2489.
289. Jayaprakasam, B., Olson, L.K., Schutzki, R.E., Tai, M.H. et Nair, M.G. (2006). Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in cornelian cherry (*Cornus mas*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(1), 243-248. <http://dx.doi.org/10.1021/jf0520342>
290. Leskovic, A., Joksic, G., Jankovic, T., Savikin, K. et Menkovic, N. (2007). Radioprotective properties of the phytochemically characterized extracts of *Crataegus monogyna*, *Cornus mas* and *Gentianaella austriaca* on human lymphocytes in vitro. *Planta Medica*, 73(11), 1169-1175. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2007-981586>
291. Šavikin, K., Zdunic, G., Jankovic, T., Stanojkovic, T., Juranic, Z. et Menkovic, N. (2009). In vitro cytotoxic and antioxidative activity of *Cornus mas* and *Cotinus coggygia*. *Natural Product Research*, 23(18), 1731-1739. <http://dx.doi.org/10.1080/14786410802267650>
292. Okuda, T., Hatano, T. et Ogawa, N. (1984). Cornusiin A, a dimeric ellagitannin forming four tautomers, and accompanying new tannins in *Cornus officinalis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 32(11), 4662-4665.
293. Hatano, T., Ogawa, N., Kira, R., Yasuhara, T. et Okuda, T. (1989). Tannins of Cornaceous plants. I. Cornusiins A, B and C, dimeric monomeric and trimeric hydrolyzable tannins from *Cornus officinalis*, and orientation of valoneoyl group in related tannins. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(8), 2083-2090.
294. Ho Lee, S., Tanaka, T., Nonaka, G.I. et Nishioka, I. (1989). Sedoheptulose digallate from *Cornus officinalis*. *Phytochemistry*, 28(12), 3469-3472.
295. Hatano, T., Yasuhara, T. et Okuda, T. (1989). Tannins of Cornaceous plants. II. : Cornusiins D, E and F, new dimeric and trimeric hydrolyzable tannins from *Cornus officinalis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(10), 2665-2669.
296. Hatano, T., Yasuhara, T., Abe, R. et Okuda, T. (1990). A galloylated monoterpene glucoside and a dimeric hydrolysable tannin from *Cornus officinalis*. *Phytochemistry*, 29(9), 2975-2978.
297. Kim, D.K. et Kwak, J.H. (1998). A furan derivative from *Cornus officinalis*. *Archives of Pharmacal Research*, 21(6), 787-789.
298. Tian, G., Zhang, T., Yang, F. et Ito, Y. (2000). Separation of gallic acid from *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, 886(1-2), 309-312. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00480-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00480-5)
299. Wang, Y., Li, Z., Chen, L. et Xu, X. (2006). Antiviral compounds and one new iridoid glycoside from *Cornus officinalis*. *Progress in Natural Science*, 16(2), 142-146. <http://dx.doi.org/10.1080/10020070612331343205>

300. Nawa, Y., Endo, J. et Ohta, T. (2007). The inhibitory effect of the components of *Cornus officinalis* on melanogenesis. *Journal of Cosmetic Science*, 58(5), 505-517.
301. Kim, S.H., Lee, M.K., Ahn, M.J., Lee, K.Y., Kim, Y.C. et Sung, S.H. (2009). Efficient method for extraction and simultaneous determination of active constituents in *Cornus officinalis* by reflux extraction and high performance liquid chromatography with diode array detection. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 32(6), 822-832. <http://dx.doi.org/10.1080/10826070902768021>
302. Slimestad, R. et Andersen, Ø.M. (1998). Cyanidin 3-(2-glucosylgalactoside) and other anthocyanins from fruits of *Cornus suecica*. *Phytochemistry*, 49(7), 2163-2166. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00397-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00397-5)
303. Tundis, R., Loizzo, M.R., Menichini, F. et Statti, G.A. (2008). Biological and pharmacological activities of iridoids: Recent developments. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 8(4), 399-420. <http://dx.doi.org/10.2174/138955708783955926>
304. Dai, J.-Q., Liu, Z.-L. et Yang, L. (2002). Non-glycosidic iridoids from *Cymbaria mongolica*. *Phytochemistry*, 59(5), 537-542. [http://dx.doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00488-5](http://dx.doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00488-5)
305. Stermitz, F.R. et Krull, R.E. (1998). Iridoid glycosides of *Cornus canadensis*: A comparison with some other *Cornus* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 26(8), 845-849.
306. Jensen, S.R., Kjær, A. et Nielsen, B.J. (1973). Loniceroside (secologanin) in *Cornus officinalis* and *C. mas*. *Phytochemistry*, 12(8), 2064-2065.
307. Zhou, L.L., Liu, Z.Q., Wu, G.G., Song, F.R. et Liu, S.Y. (2008). Analysis on iridoid glycosides in crude and processed extracts from *Cornus officinalis* by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Acta Chimica Sinica*, 66(24), 2712-2716.
308. Lee, K.Y., Sung, S.H., Kim, S.H., Jang, Y.P., Oh, T.H. et Kim, Y.C. (2009). Cognitive-enhancing activity of loganin isolated from *Cornus officinalis* in scopolamine-induced amnesic mice. *Archives of Pharmacal Research*, 32(5), 677-683. <http://dx.doi.org/10.1007/s12272-009-1505-6>
309. Jensen, S.R., Kjær, A. et Nielsen, B.J. (1973). Geniposide and monotropein in *Cornus suecica*. *Phytochemistry*, 12(8), 2065-2066.
310. Bakirtzi, C., Tsatalas, P., Spanakis, M. et Kokkalou, E. (2013). GC-MS Analysis of Volatile Constituents of *Cornus mas* Fruits and Pulp. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 16(2), 183-200. <http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2013.793970>
311. Zhuang, X., Klingeman, W.E., Hu, J. et Chen, F. (2008). Emission of volatile chemicals from flowering dogwood (*Cornus florida* L.) flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(20), 9570-9574. <http://dx.doi.org/10.1021/jf801651v>
312. Kim, K.H., Choi, S.U., Kim, Y.C. et Lee, K.R. (2011). Tirucallane triterpenoids from *Cornus walteri*. *Journal of Natural Products*, 74(1), 54-59. <http://dx.doi.org/10.1021/np100660v>
313. Bhakuni, R.S., Shukla, Y.N., Tripathi, A.K., Prajapati, V. et Kumar, S. (2002). Insect growth inhibitor activity of arjunolic acid isolated from *Cornus capitata*. *Phytotherapy Research*, 16(SUPPL. 1), S68-S70.
314. S. Bhakuni, R., N. Shukla, Y. et S. Thakur, R. (1987). Triterpenoids from *Cornus capitata*. *Phytochemistry*, 26(9), 2607-2610.
315. Robertson, A., Soliman, G. et Owen, E.C. (1939). Polyterpenoid compounds. Part I. Betulinic acid from *Cornus florida* L. *Journal of the Chemical Society*, 1267-1273.
316. Lee, D.Y., Jung, L., Yoo, K.H., Song, M.C., Chung, I.S., Ann, E.M., Kim, D.K. et Baek, N.I. (2008). Cytotoxic sterols from the fruits of *Cornus kousa* Burg. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 51(2), 73-75. <http://dx.doi.org/10.3839/jabc.2008.014>

317. Hostettmann, K., Hostettman-Kaldas, M. et Nakanishi, K. (1978). Molluscicidal saponins from *Cornus florida* L. *Helvetica Chimica Acta*, 61(6), 1990-1995.
318. Nishino, C., Kobayashi, K. et Fukushima, M. (1988). Halleridone, a cytotoxic constituent from *Cornus controversa*. *Journal of Natural Products*, 51(6), 1281-1282.
319. Miyazawa, M., Anzai, J., Fujioka, J. et Isikawa, Y. (2003). Insecticidal compounds against *Drosophila melanogaster* from *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. *Natural Product Research*, 17(5), 337-339. <http://dx.doi.org/10.1080/1057563031000072587>
320. Kim, K.H., Shin, Y.J., Choi, S.U. et Lee, K.R. (2011). New cytotoxic δ -Valerolactones from *Cornus walteri*. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(7), 2443-2445. <http://dx.doi.org/10.5012/bkcs.2011.32.7.2443>
321. Roia, F.C. et Smith, R.A. (1977). The antibacterial screening of some common ornamental plants. *Economic Botany*, 31(1), 28-37. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02860649>
322. Mau, J.L., Chen, C.P. et Hsieh, P.C. (2001). Antimicrobial effect of extracts from Chinese chive, cinnamon, and corni, fructus. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 183-188. <http://dx.doi.org/10.1021/jf000263c>
323. Oskay, M. et Sari, D. (2007). Antimicrobial screening of some Turkish medicinal plants. *Pharmaceutical Biology*, 45(3), 176-181. <http://dx.doi.org/10.1080/13880200701213047>
324. Oskay, M., Oskay, D. et Kalyoncu, F. (2009). Activity of some plant extracts against multi-drug resistant human pathogens. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 8(4), 293-300.
325. López-Alarcón, C. et Denicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta*, 763, 1-10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2012.11.051>
326. McCune, L.M. et Johns, T. (2002). Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by the Indigenous Peoples of the North American boreal forest. *Journal of Ethnopharmacology*, 82(2-3), 197-205.
327. Ito, S. (2003). A Chemist's View of Melanogenesis. *Pigment Cell Research*, 16(3), 230-236. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0749.2003.00037.x>
328. Choi, W.H., Chu, J.P., Jiang, M.H., Baek, S.H. et Park, H.D. (2011). Effects of fraction obtained from Korean Corni Fructus extracts causing anti-proliferation and p53-dependent apoptosis in A549 lung cancer cells. *Nutrition and Cancer*, 63(1), 121-129. <http://dx.doi.org/10.1080/01635581.2010.516475>
329. Min, B.S., Bae, K.H., Kim, Y.H., Miyashiro, H., Hattori, M. et Shimotohno, K. (1999). Screening of Korean plants against human immunodeficiency virus type 1 protease. *Phytotherapy Research*, 13(8), 680-682. [http://dx.doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1573\(199912\)13:8<680::aid-ptr501>3.0.co;2-h](http://dx.doi.org/10.1002/(sici)1099-1573(199912)13:8<680::aid-ptr501>3.0.co;2-h)
330. Min, B.S., Kim, Y.H., Tomiyama, M., Nakamura, N., Miyashiro, H., Otake, T. et Hattori, M. (2001). Inhibitory effects of Korean plants on HIV-1 activities. *Phytotherapy Research*, 15(6), 481-486. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.751>
331. El-Ansary, A. et Al-Daihan, S. (2006). Important aspects of *Biomphalaria* snail-schistosome interactions as targets for antischistosome drug. *Medical Science Monitor*, 12(12), RA282-RA292.
332. Fish, F., Lampert, I., Halachmi, A., Riesenfeld, G. et Herzberg, M. (1987). The SOS chromotest kit: A rapid method for the detection of genotoxicity. *Toxicity Assessment*, 2(2), 135-147. <http://dx.doi.org/10.1002/tox.2540020203>
333. Advance Chemistry Development. (1994-2013). *ChemSketch* (Version 14.01). : Advance Chemistry Development.
334. Thomson Reuters. (1988-2013). *EndNote*.

335. Sarkar, S.K., Poddar, G. et Mahato, S.B. (1987). Glucosides from *Abies webbiana*. *Planta Medica*, 53(2), 219-220.
336. Stermitz, F.R., Kamm, C.D. et Tawara, J.N. (2000). Piperidine alkaloids of spruce (*Picea*) and fir (*Abies*) species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(2), 177-181.
337. Mabberley, D.J. (2008). *Mabberley's plant-book: a portable dictionary of plants, their classification and uses*. (3rd éd.). Cambridge : Cambridge University Press.
338. Herrick, J.W. et Snow, D.R. (1995). *Iroquois medical botany*. : Syracuse University Press.
339. Duke, J.A. (1983). *Abies balsamea* (L.) Mill. *Handbook of Energy Crops* : NewCROPS.
340. Pichette, A., Garneau, F.X., Collin, G., Jean, F.I. et Riedl, B. (2003). Estimation of jack pine, black spruce, and balsam fir proportions in wood chips. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 23(2), 131-140.
341. Pichette, A., Garneau, F.X., Jean, F.I., Riedl, B. et Girard, M. (1998). Chemical differences between the wood extracts of jack pine (*Pinus banksiana*), black spruce (*Picea mariana*) and balsam fir (*Abies balsamea*) from Eastern Canada. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 18(4), 427-438.
342. Flack, H.D. (1983). On enantiomorph-polarity estimation. *Acta Crystallographica Section A*, A39(6), 876-881.
343. Jingyu, S., Kanghou, L., Tangsheng, P., Cun-heng, H. et Clardy, J. (1986). The structure of methyl isosartortuoate, a novel tetracyclic tetraterpenoid from the soft coral *Sarcophyton tortuosum*. *Journal of the American Chemical Society*, 108(1), 177-178.
344. Park, S.Y., Choi, H., Hwang, H., Kang, H. et Rho, J.R. (2010). Gukulenins A and B, cytotoxic tetraterpenoids from the marine sponge *Phorbas gukulensis*. *Journal of Natural Products*, 73(4), 734-737. <http://dx.doi.org/10.1021/np900606h>
345. Hou, X.F., Yao, S., Mándi, A., Kurtán, T., Tang, C.P., Ke, C.Q., Li, X.Q. et Ye, Y. (2012). Bicingningines A and B, two new dimeric diterpenes from *Cunninghamia lanceolata*. *Organic letters*, 14(2), 460-463. <http://dx.doi.org/10.1021/ol202915r>
346. Liu, M., Lin, S., Gan, M., Chen, M., Li, L., Wang, S., Zi, J., Fan, X., Liu, Y., Si, Y., Yang, Y., Chen, X. et Shi, J. (2012). Yaoshanenolides A and B: New Spirolactones from the Bark of *Machilus yaoshansis*. *Organic letters*, 14(4), 1004-1007. <http://dx.doi.org/10.1021/ol300130s>
347. Takahashi, T. (1938). Über die Konstitution des kristallinen Bestandteils in Rinden und Blättern von *Abies mariesii*, Mast., (I. Mitteil.). *J. Pharm. Soc. Jpn*, 58(10), 888-901.
348. Shang, N., Guerrero-Analco, J.A., Musallam, L., Saleem, A., Muhammad, A., Walshe-Roussel, B., Cuerrier, A., Arnason, J.T. et Haddad, P.S. (2012). Adipogenic constituents from the bark of *Larix laricina* du Roi (K. Koch; Pinaceae), an important medicinal plant used traditionally by the Cree of Eeyou Istchee (Quebec, Canada) for the treatment of type 2 diabetes symptoms. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(3), 1051-1057. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2012.04.002>
349. Abad, A., Arno, M., Peiro, M. et Zaragoza, R.J. (1991). Synthesis of (-)-auricularic acid and its C-4 epimer the absolute configuration of auricularic acid. *Tetrahedron*, 47(23), 3829-3844. [http://dx.doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)80907-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0040-4020(01)80907-8)
350. Zhao, Y.X., Zhou, L., Guo, L., Luo, X.D. et Zhou, J. (2005). A new diterpenoid and active stilbenes from *Pinus armandii* heartwood. *Journal of Asian Natural Products Research*, 7(3), 259-264.
351. Alvarez-Manzaneda, E.J., Chahboun, R., Guardia, J.J., Lachkar, M., Dahdouh, A., Lara, A. et Messouri, I. (2006). New route to 15-hydroxydehydroabietic acid derivatives: Application to the first synthesis of some bioactive abietane and nor-abietane type terpenoids. *Tetrahedron Letters*, 47(15), 2577-2580.

352. Wahlberg, I., Vogt, C., Wallin, I., Nishida, T. et Enzell, C.R. (1982). Tobacco Chemistry. 57. Two New Labdanic Compounds from Tobacco. *Acta Chemica Scandinavica B*, 36, 573-576.
353. Wahlberg, I., Karlsson, K., Curvall, M., Nishida, T. et Enzell, C.R. (1978). Tobacco Chemistry. 43. Sensitized photo-oxygenation of (12Z)-abienol. Biomimetic synthesis of Tobacco labdanoids. *Acta Chemica Scandinavica B*, 32, 203-215.
354. Wang, J.R., Kurtán, T., Mándi, A. et Guo, Y.W. (2012). Structure and absolute stereochemistry of nortriterpenoids from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. *European Journal of Organic Chemistry*(28), 5471-5482. <http://dx.doi.org/10.1002/ejoc.201200557>
355. He, F., Li, X.Y., Yang, G.Y., Li, X.N., Luo, X., Zou, J., Li, Y., Xiao, W.L. et Sun, H.D. (2012). Nortriterpene constituents from *Schisandra sphenanthera*. *Tetrahedron*, 68(2), 440-446. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2011.11.026>
356. O'Brien, J., Wilson, I., Orton, T. et Pognan, F. (2000). Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European Journal of Biochemistry*, 267, 5421-5426. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01606.x>
357. Banfi, E., Scialino, G. et Monti-Bragadin, C. (2003). Development of a microdilution method to evaluate *Mycobacterium tuberculosis* drug susceptibility. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(5), 796-800. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkg439>
358. Chandler, R.F., Freeman, L. et Hooper, S.N. (1979). Herbal remedies of the maritime Indians. *Journal of Ethnopharmacology*, 1(1), 49-68. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-8741\(79\)90016-3](http://dx.doi.org/10.1016/0378-8741(79)90016-3)
359. Wavefunction Inc. *Spartan'10*. Irvine, CA 92612 (USA).
360. Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H.P., Izmaylov, A.F., Bloino, J., Zheng, G., Sonnenberg, J.L., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Montgomery Jr., J.A., Peralta, J.E., Ogliaro, F., Bearpark, M., Heyd, J.J., Brothers, E., Kudin, K.N., Staroverov, V.N., Keith, T., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A., Burant, J.C., Iyengar, S.S., Tomasi, J., Cossi, M., Rega, N., Millam, J.M., Klene, M., Knox, J.E., Cross, J.B., Bakken, V., Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R., Stratmann, R.E., Yazyev, O., Austin, A.J., Cammi, R., Pomelli, C., Ochterski, J.W., Martin, R.L., Morokuma, K., Zakrzewski, V.G., Voth, G.A., Salvador, P., Dannenberg, J.J., Dapprich, S., Daniels, A.D., Farkas, O., Foresman, J.B., Ortiz, J.V., Cioslowski, J., Fox, D.J. (2010). *Gaussian 09, Revision C.01*. Wallingford CT (USA).
361. Claridge, T.D.W. (1999). *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*. (Vol. 19). Amsterdam : Pergamon.
362. Smith, M. et March, J. (2007). *March's advanced organic chemistry : reactions, mechanisms, and structure*. Hoboken, N.J. : Hoboken, N.J. : John Wiley & Sons.
363. Saebo, S. et Boggs, J.E. (1981). Structure and conformations of cyclohexene, 1,4-cyclohexadiene, and 1,3-cyclohexadiene. *Journal of Molecular Structure*, 73(1), 137-144.
364. Altona, C., Francke, R., de Haan, R., Ippel, J.H., Daalmans, G.J., Hoekzema, A.J.A.W. et van Wijk, J. (1994). Empirical group electronegativities for vicinal NMR proton-proton couplings along a C-C bond: Solvent effects and reparameterization of the Haasnoot equation. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 32(11), 670-678. <http://dx.doi.org/10.1002/mrc.1260321107>
365. Whitesell, J.K. et Minton, M.A. (1987). Anti, vicinal hydrogen-hydrogen interactions. A fundamental shift effect in carbon-13 NMR spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society*, 109(1), 225-228. <http://dx.doi.org/10.1021/ja00235a033>

366. Wenkert, E., Wovkulich, P.M., Pellicciari, R. et Ceccherelli, P. (1977). 1-Methyl-1-dihalomethylcyclohexane derivatives. *Journal of Organic Chemistry*, 42(6), 1105-1107.
367. Halgren, T.A. (1996). Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. *Journal of Computational Chemistry*, 17(5-6), 490-519.
368. Davidson, E.R. et Feller, D. (1986). Basis set selection for molecular calculations. *Chemical Reviews*, 86(4), 681-696.
369. Kende, A.S., James Bentley, T., Mader, R.A. et Ridge, D. (1974). A simple total synthesis of (\pm)-dendrobine [6]. *Journal of the American Chemical Society*, 96(13), 4332-4334.
370. Kakushima, M., Das, J. et Reid, G.R. (1979). Total synthesis of androstanes. *Canadian Journal of Chemistry*, 57(24), 3356-3358.
371. Taarning, E. et Madsen, R. (2008). Unsaturated aldehydes as alkene equivalents in the Diels-Alder reaction. *Chemistry - A European Journal*, 14(18), 5638-5644. <http://dx.doi.org/10.1002/chem.200800003>
372. Veselovsky, V.V., Gybin, A.S., Lozanova, A.V., Moiseenkov, A.M., Smit, W.A. et Caple, R. (1988). Dramatic acceleration of the Diels-Alder reaction by adsorption on chromatography adsorbents. *Tetrahedron Letters*, 29(2), 175-178.
373. Furniss, B.S., Hannaford, A.J., Smith, P.W.G. et Tatchell, A.R. (1989). *Vogel's textbook of practical organic chemistry*. (5e éd.) : Pearson Education Limited.
374. Oikawa, H. et Tokiwano, T. (2004). Enzymatic catalysis of the Diels-Alder reaction in the biosynthesis of natural products. *Natural Product Reports*, 21(3), 321-352. <http://dx.doi.org/10.1039/b305068h>
375. Auclair, K., Sutherland, A., Kennedy, J., Witter, D.J., Van den Heever, J.P., Hutchinson, C.R. et Vederas, J.C. (2000). Lovastatin nonaketide synthase catalyzes an intramolecular diels - Alder reaction of a substrate analogue [7]. *Journal of the American Chemical Society*, 122(46), 11519-11520. <http://dx.doi.org/10.1021/ja003216+>
376. Li, B., Kong, D.Y., Shen, Y.H., Yuan, H., Yue, R.C., He, Y.R., Lu, L., Shan, L., Li, H.L., Ye, J., Yang, X.W., Su, J., Liu, R.H. et Zhang, W.D. (2012). Pseudolaridimers A and B, hetero-cycloartane-labdane diels-alder adducts from the cone of *Pseudolarix amabilis*. *Organic Letters*, 14(21), 5432-5435. <http://dx.doi.org/10.1021/ol302501a>
377. Chayavichitsilp, P., Buckwalter V, J., Krakowski, A.C. et Friedlander, S.F. (2009). Herpes simplex. *Pediatrics in Review*, 30(4), 119-130. <http://dx.doi.org/10.1542/pir.30-4-119>
378. Greco, A., Diaz, J.J., Thouvenot, D. et Morfin, F. (2007). Novel targets for the development of anti-herpes compounds. *Infectious Disorders - Drug Targets*, 7(1), 11-18. <http://dx.doi.org/10.2174/187152607780090766>
379. Khan, M.T.H., Ather, A., Thompson, K.D. et Gambari, R. (2005). Extracts and molecules from medicinal plants against herpes simplex viruses. *Antiviral Research*, 67(2), 107-119. <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2005.05.002>
380. Newman, D.J. et Cragg, G.M. (2007). Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. *Journal of Natural Products*, 70(3), 461-477. <http://dx.doi.org/10.1021/np068054v>
381. Arnason, T., Hebda, R.J. et Johns, T. (1981). Use of plants for food and medicine by native peoples of eastern Canada. *Canadian Journal of Botany*, 59, 2189-2325.
382. Koch, C., Reichling, J., Schneelee, J. et Schnitzler, P. (2008). Inhibitory effect of essential oils against herpes simplex virus type 2. *Phytotherapy*, 15(1-2), 71-78. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2007.09.003>
383. Agrawal, P.K. (1992). NMR Spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochemistry*, 31(10), 3307-3330.

384. Han, J.T., Bang, M.H., Chun, O.K., Kim, D.O., Lee, C.Y. et Baek, N.I. (2004). Flavonol glycosides from the aerial parts of *Aceriphyllum rossii* and their antioxidant activities. *Archives of Pharmacal Research*, 27(4), 390-395.
385. Scharbert, S., Holzmann, N. et Hofmann, T. (2004). Identification of the astringent taste compounds in black tea infusions by combining instrumental analysis and human bioresponse. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3498-3508. <http://dx.doi.org/10.1021/jf049802u>
386. Lin, H.C., Tsai, S.F. et Lee, S.S. (2011). Flavonoid glycosides from the leaves of *Machilus philippinensis*. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 58(4), 555-562. <http://dx.doi.org/10.1002/jccs.201190020>
387. Hyoungh Ja, K., Woo, E.R. et Park, H. (1994). A novel lignan and flavonoids from *Polygonum aviculare*. *Journal of Natural Products*, 57(5), 581-586. <http://dx.doi.org/10.1021/np50107a003>
388. Hyun, A.J., Ae, R.K., Hae, Y.C. et Jae, S.C. (2002). In vitro antioxidant activity of some selected *Prunus* species in Korea. *Archives of Pharmacal Research*, 25(6), 865-872.
389. Kadota, S., Takamori, Y., Khin, N.N., Kikuchi, T., Tanaka, K. et Ekimoto. (1990). Constituents of the leaves of *Woodfordia fruticosa* KURZ. I. Isolation, structure, and proton and carbon-13 nuclear magnetic resonance signal assignments of woodfruticosin (Woodfordin C), an inhibitor of deoxyribonucleic acid topoisomerase II. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 38(10), 2687-2697.
390. Miyase, T., Ueno, A., Takizawa, N., Kobayashi, H. et Oguchi, H. (1988). Studies on the glycosides of *Epimedium grandiflorum* Morr. var. *thunbergianum* (Miq.) Nakai. III. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36(7), 2475-2484.
391. Takeda, Y., Zhang, H., Masuda, T., Honda, G., Otsuka, H., Sezik, E., Yesilada, E. et Sun, H. (1997). Megastigmane glucosides from *Stachys byzantina*. *Phytochemistry*, 44(7), 1335-1337. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00751-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00751-0)
392. Matsunami, K., Otsuka, H. et Takeda, Y. (2010). Structural revisions of blumenol C glucoside and byzantionoside B. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58(3), 438-441. <http://dx.doi.org/10.1248/cpb.58.438>
393. Takaoka, S., Takaoka, N., Minoshima, Y., Huang, J.M., Kubo, M., Harada, K., Hioki, H. et Fukuyama, Y. (2009). Isolation, synthesis, and neurite outgrowth-promoting activity of illicinin A from the flowers of *Illicium anisatum*. *Tetrahedron*, 65(40), 8354-8361. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2009.08.015>
394. Wang, K.J., Yang, C.R. et Zhang, Y.J. (2006). Phenolic antioxidants from Chinese toon (fresh young leaves and shoots of *Toona sinensis*). *Food Chemistry*, 101(1), 365-371. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.044>
395. Cheng, K.W., Yang, R.Y., Tsou, S.C.S., Lo, C.S.C., Ho, C.T., Lee, T.C. et Wang, M. (2009). Analysis of antioxidant activity and antioxidant constituents of Chinese toon. *Journal of Functional Foods*, 1(3), 253-259. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2009.01.013>
396. Owen, R.W., Haubner, R., Hull, W.E., Erben, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H. et Haber, B. (2003). Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre. *Food and Chemical Toxicology*, 41(12), 1727-1738. [http://dx.doi.org/10.1016/S0278-6915\(03\)00200-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0278-6915(03)00200-X)
397. Cho, J.Y., Sohn, M.J., Lee, J. et Kim, W.G. (2010). Isolation and identification of pentagalloylglucose with broad-spectrum antibacterial activity from *Rhus trichocarpa* Miquel. *Food Chemistry*, 123(2), 501-506. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.072>

398. Quideau, S. et Feldman, K.S. (1996). Ellagitannin chemistry. *Chemical Reviews*, 96(1), 475-503.
399. Wilkins, C.K. et Bohm, B.A. (1976). Ellagitannins from *Tellima grandiflora*. *Phytochemistry*, 15(1), 211-214.
400. Chen, Y., Wang, J., Ou, Y., Chen, H., Xiao, S., Liu, G., Cao, Y. et Huang, Q. (2014). Cellular antioxidant activities of polyphenols isolated from *Eucalyptus* leaves (*Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla* GL9). *Journal of Functional Foods*, 7(1), 737-745. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2013.12.003>
401. Kelley, C.J., Harruff, R.C. et Carmack, M. (1976). Polyphenolic acids of *Lithospermum ruderae*. II. Carbon-13 nuclear magnetic resonance of lithospermic and rosmarinic acids. *Journal of Organic Chemistry*, 41(3), 449-455. <http://dx.doi.org/10.1021/jo00865a007>
402. D'Abrosca, B., DellaGreca, M., Fiorentino, A., Monaco, P., Previtera, L., Simonet, A.M. et Zarrelli, A. (2001). Potential allelochemicals from *Sambucus nigra*. *Phytochemistry*, 58(7), 1073-1081. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00401-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00401-0)
403. Yu, Y., Zhu, C., Wang, S., Song, W., Yang, Y. et Shi, J. (2013). Homosecoiridoid alkaloids with amino acid units from the flower buds of *Lonicera japonica*. *Journal of Natural Products*, 76(12), 2226-2233. <http://dx.doi.org/10.1021/np4005773>
404. Timm, N.H. (2002). *Applied multivariate analysis*. New York : Springer.
405. Kim, H.K., Choi, Y.H. et Verpoorte, R. (2010). NMR-based metabolomic analysis of plants. *Nature Protocols*, 5(3), 536-549. <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2009.237>
406. Safer, S., Cicek, S.S., Pieri, V., Schwaiger, S., Schneider, P., Wissemann, V. et Stuppner, H. (2011). Metabolic fingerprinting of *Leontopodium* species (Asteraceae) by means of ¹H NMR and HPLC-ESI-MS. *Phytochemistry*, In Press, Corrected Proof <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.04.006>
407. Worachartcheewan, A., Mandi, P., Prachayasittikul, V., Toropova, A.P., Toropov, A.A. et Nantasenamat, C. (2014). Large-scale QSAR study of aromatase inhibitors using SMILES-based descriptors. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 138, 120-126. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemolab.2014.07.017>
408. Xu, H.X., Kadota, S., Wang, H., Kurokawa, M., Shiraki, K., Matsumoto, T. et Namba, T. (1994). A new hydrolyzable tannin from *Geum japonicum* and its antiviral activity. *Heterocycles*, 38(1), 167-175. <http://dx.doi.org/10.3987/COM-93-6550>
409. Amaral, A.C.F., Kuster, R.M., Gonçalves, J.L.S. et Wigg, M.D. (1999). Antiviral investigation on the flavonoids of *Chamaesyce thymifolia*. *Fitoterapia*, 70(3), 293-295. [http://dx.doi.org/10.1016/S0367-326X\(99\)00008-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0367-326X(99)00008-8)
410. Ikeda, K., Tsujimoto, K., Uozaki, M., Nishide, M., Suzuki, Y., Koyama, A.H. et Yamasaki, H. (2011). Inhibition of multiplication of herpes simplex virus by caffeic acid. *International Journal of Molecular Medicine*, 28(4), 595-598. <http://dx.doi.org/10.3892/ijmm.2011.739>
411. Qiu, X., Zhong, M., Xiang, Y., Qu, C., Pei, Y., Zhang, Y., Yang, C., Gasteiger, J., Xu, J., Liu, Z. et Wang, Y. (2014). Self-organizing maps for the classification of gallic acylate polyphenols as HSV-1 inhibitors. *Medicinal Chemistry*, 10(4), 388-401. <http://dx.doi.org/10.2174/15734064113099990038>
412. Takechi, M., Tanaka, Y., Takehara, M., Nonaka, G.I. et Nishioka, I. (1985). Structure and antiherpetic activity among the Tannins. *Phytochemistry*, 24(10), 2245-2250.
413. Pei, Y., Chen, Z.P., Ju, H.Q., Komatsu, M., Ji, Y.H., Liu, G., Guo, C.W., Zhang, Y.J., Yang, C.R., Wang, Y.F. et Kitazato, K. (2011). Autophagy is involved in anti-viral activity of pentagalloylglucose (PGG) against Herpes simplex virus type 1 infection in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 405(2), 186-191. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.01.006>

414. Pei, Y., Xiang, Y.F., Chen, J.N., Lu, C.H., Hao, J., Du, Q., lai, C.C., Qu, C., Li, S., Ju, H.Q., Ren, Z., Liu, Q.Y., Xiong, S., Qian, C.W., Zeng, F.L., Zhang, P.Z., Yang, C.R., Zhang, Y.J., Xu, J., Kitazato, K. et Wang, Y.F. (2011). Pentagalloylglucose downregulates cofilin1 and inhibits HSV-1 infection. *Antiviral Research*, 89(1), 98-108. <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2010.11.012>
415. Fukuchi, K., Sakagami, H., Okuda, T., Hatano, T., Tanuma, S.i., Kitajima, K., Inoue, Y., Inoue, S., Ichikawa, S., Nonoyama, M. et Konno, K. (1989). Inhibition of herpes simplex virus infection by tannins and related compounds. *Antiviral Research*, 11(5-6), 285-297.
416. Kurokawa, M., Hozumi, T., Basnet, P., Nakano, M., Kadota, S., Namba, T., Kawana, T. et Shiraki, K. (1998). Purification and characterization of Eugeniiin as an anti-herpes virus compound from *Geum japonicum* and *Syzygium aromaticum*. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 284(2), 728-735.
417. Kratz, J.M., Andrighetti-Fröhner, C.R., Kolling, D.J., Leal, P.C., Cirne-Santos, C.C., Yunes, R.A., Nunes, R.J., Trybala, E., Bergström, T., Frugulhetti, I.C.P.P., Barardi, C.R.M. et Simões, C.M.O. (2008). Anti-HSV-1 and anti-HIV-1 activity of gallic acid and pentyl gallate. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103(5), 437-442.
418. Wang, Y., Zhu, H., Wang, D., Cheng, R., Yang, C., Xu, M. et Zhang, Y. (2014). A new phloroglucinol glucoside from the whole plants of *Glochidion eriocarpum*. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 35(2), 631-634. <http://dx.doi.org/10.5012/bkcs.2014.35.2.631>
419. Jeong, H.J., Ryu, Y.B., Park, S.J., Kim, J.H., Kwon, H.J., Kim, J.H., Park, K.H., Rho, M.C. et Lee, W.S. (2009). Neuraminidase inhibitory activities of flavonols isolated from *Rhodiola rosea* roots and their in vitro anti-influenza viral activities. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17(19), 6816-6823. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2009.08.036>
420. Thapa, M., Kim, Y., Desper, J., Chang, K.O. et Hua, D.H. (2012). Synthesis and antiviral activity of substituted quercetins. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 22(1), 353-356. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.10.119>
421. Kai, H., Obuchi, M., Yoshida, H., Watanabe, W., Tsutsumi, S., Park, Y.K., Matsuno, K., Yasukawa, K. et Kurokawa, M. (2014). In vitro and in vivo anti-influenza virus activities of flavonoids and related compounds as components of Brazilian propolis (AF-08). *Journal of Functional Foods*, 8(1), 214-223. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.03.019>
422. Kashiwada, Y., Ahmed, F.A., Kurimoto, S.I., Kim, S.Y., Shibata, H., Fujioka, T. et Takaishi, Y. (2012). New α -glucosides of caffeoyl quinic acid from the leaves of *Moringa oleifera* Lam. *Journal of Natural Medicines*, 66(1), 217-221. <http://dx.doi.org/10.1007/s11418-011-0563-5>
423. Kim, Y., Narayanan, S. et Chang, K.O. (2010). Inhibition of influenza virus replication by plant-derived isoquercetin. *Antiviral Research*, 88(2), 227-235. <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2010.08.016>
424. Mahmood, N., Pizza, C., Aquino, R., De Tommasi, N., Piacente, S., Colman, S., Burke, A. et Hay, A.J. (1993). Inhibition of HIV infection by flavanoids. *Antiviral Research*, 22(2-3), 189-199.
425. Kim, H.J., Lee, J.S., Woo, E.R., Kim, M.K., Yang, B.S., Yu, Y.G., Park, H. et Lee, Y.S. (2001). Isolation of virus-cell fusion inhibitory components from *Eugenia caryophyllata*. *Planta Medica*, 67(3), 277-279. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2001-11993>
426. Lim, Y.A., Mei, M.C., Kusumoto, I.T., Miyashiro, H., Hattori, M., Gupta, M.P. et Correa, M. (1997). HIV-1 reverse transcriptase inhibitory principles from *Chamaesyce hyssopifolia*. *Phytotherapy Research*, 11(1), 22-27. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199702\)11:1<22::AID-PTR951>3.0.CO;2-3](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199702)11:1<22::AID-PTR951>3.0.CO;2-3)

427. Yu, Y.B., Miyashiro, H., Nakamura, N., Hattori, M. et Jong, C.P. (2007). Effects of triterpenoids and flavonoids isolated from *Alnus firma* on HIV-1 viral enzymes. *Archives of Pharmacal Research*, 30(7), 820-826.
428. Hyoungh Ja, K., Woo, E.R., Shin, C.G. et Park, H. (1998). A new flavonol glycoside gallate ester from *Acer okamotoanum* and its inhibitory activity against Human Immunodeficiency Virus-1 (HIV-1) integrase. *Journal of Natural Products*, 61(1), 145-148. <http://dx.doi.org/10.1021/np970171q>
429. Duan, D., Li, Z., Luo, H., Zhang, W., Chen, L. et Xu, X. (2004). Antiviral compounds from traditional Chinese medicines *Galla Chinese* as inhibitors of HCV NS3 protease. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 14(24), 6041-6044. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.09.067>
430. Zuo, G.Y., Li, Z.Q., Chen, L.R. et Xu, X.J. (2005). In vitro anti-HCV activities of *Saxifraga melanocentra* and its related polyphenolic compounds. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 16(6), 393-398.
431. Tamura, S., Yang, G.M., Yasueda, N., Matsuura, Y., Komoda, Y. et Murakami, N. (2010). Tellimagrandin I, HCV invasion inhibitor from *Rosae Rugosae* Flos. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20(5), 1598-1600. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.01.084>
432. Tharanath, V., Peddanna, K., Kotaiah et Gopal, D.V.S. (2013). Flavonoids isolated from *Foeniculum vulgare* (fennel) have virostatic efficiency against Bluetongue virus. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 23(1), 237-242.
433. Thiberville, S.D., Moyen, N., Dupuis-Maguiraga, L., Nougairede, A., Gould, E.A., Roques, P. et de Lamballerie, X. (2013). Chikungunya fever: Epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral Research*, 99(3), 345-370. <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.06.009>
434. Higgs, S. (2014). Chikungunya virus: A major emerging threat. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 14(8), 535-536. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2014.14.8.edit>
435. Schwartz, K.L., Giga, A. et Boggild, A.K. (2014). Chikungunya fever in Canada: Fever and polyarthritis in a returned traveller. *CMAJ*, 186(10), 772-774. <http://dx.doi.org/10.1503/cmaj.130680>
- 10.1371
436. Konishi, E. et Hotta, S. (1979). Effects of tannic acid and its related compounds upon Chikungunya virus. *Microbiology and Immunology*, 23(7), 659-667.
437. Medveda, S.A., Tyukavkina, N.A. et Ivanova, S.Z. (1974). Astragalin from the needles of *Larix sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*, 8(1), 123-124. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00564466>
438. Alaniya, M.D., Komissarenko, N.F. et Kemertelidze, E.P. (1974). Flavonoids from *Astragalus galegifolius* and *A. maximus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 8(6), 784. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00564613>
439. Min, B.S., Lee, S.Y., Kim, J.H., Lee, J.K., Kim, T.J., Kim, D.H., Kim, Y.H., Joung, H., Lee, H.K., Nakamura, N., Miyashiro, H. et Hattori, M. (2003). Anti-complement activity of constituents from the stem-bark of *Juglans mandshurica*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(7), 1042-1044.
440. Cui, C.B., Zhao, Q.C., Cai, B., Yao, X.S. et Osadsa, H. (2002). Two new and four known polyphenolics obtained as new cell-cycle inhibitors from *Rubus aleaefolius* poir. *Journal of Asian Natural Products Research*, 4(4), 243-252. <http://dx.doi.org/10.1080/10286020290003692>

441. Fischer, E. et Freudenberg, K. (1912). Über das Tannin und die Synthese ähnlicher Stoffe. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 45(1), 915-935. <http://dx.doi.org/10.1002/cber.191204501138>
442. Zheng, S., Laraia, L., O'Connor, C.J., Sorrell, D., Tan, Y.S., Xu, Z., Venkitaraman, A.R., Wu, W. et Spring, D.R. (2012). Synthesis and biological profiling of tellimagrandin I and analogues reveals that the medium ring can significantly modulate biological activity. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 10(13), 2590-2593. <http://dx.doi.org/10.1039/c2ob25065a>
443. Gupta, R.K., Al-Shafi, S.M.K., Layden, K. et Haslam, E. (1982). The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in plants. Part 2. Esters of (S)-hexahydroxydiphenic acid with D-glucopyranose (4C1). *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 2525-2534.
444. Lin, J.H., Ishimatsu, M., Tanaka, T., Nonaka, G. et Nishioka, I. (1990). Tannins and related compounds. XCVI. Structures of macaranins and macarinins, new hydrolyzable tannins possessing macaranoyl and tergalloyl ester groups, from the leaves of *Macaranga sinensis* (BAILL.) MUELL.-ARG. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 38(7), 1844-1851.
445. Zhang, J., Li, L., Kim, S.H., Hagerman, A.E. et Lü, J. (2009). Anti-cancer, anti-diabetic and other pharmacologic and biological activities of penta-galloyl-glucose. *Pharmaceutical Research*, 26(9), 2066-2080. <http://dx.doi.org/10.1007/s11095-009-9932-0>
446. Ren, Y., Himmeldirk, K. et Chen, X. (2006). Synthesis and structure-activity relationship study of antidiabetic penta-O-galloyl-D-glucopyranose and its analogues. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(9), 2829-2837. <http://dx.doi.org/10.1021/jm060087k>
447. Armarego, W.L.F. et Chai, C. (2009). *Purification of laboratory chemicals*. (6e éd.). Burlington, MA : Butterworth-Heinemann.
448. Ou, B., Hampsch-Woodill, M. et Prior, R.L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619-4626. <http://dx.doi.org/10.1021/jf010586o>
449. Green, S.J., Meltzer, M.S., Hibbs Jr, J.B. et Nacy, C.A. (1990). Activated macrophages destroy intracellular *Leishmania major* amastigotes by an L-arginine-dependent killing mechanism. *Journal of Immunology*, 144(1), 278-283.
450. Rago, R., Mitchen, J. et Wilding, G. (1990). DNA fluorometric assay in 96-well tissue culture plates using Hoechst 33258 after cell lysis by freezing in distilled water. *Analytical Biochemistry*, 191(1), 31-34.
451. Neises, B., Steglich, Wolfgang. (1978). Simple method for the esterification of carboxylic acids. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 17(7)
452. DeTar, D.F. et Silverstein, R. (1966). Reactions of carbodiimides. I. The mechanisms of the reactions of acetic acid with dicyclohexylcarbodiimide. *Journal of the American Chemical Society*, 88(5), 1013-1019.
453. Richards, M.R., Bai, Y. et Lowary, T.L. (2013). Comparison between DFT- and NMR-based conformational analysis of methyl galactofuranosides. *Carbohydrate Research*, 374, 103-114. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2013.03.030>
454. Houseknecht, J.B., Lowary, T.L. et Hadad, C.M. (2003). Gas- and solution-phase energetics of the methyl α - and β -D-aldopentofuranosides. *Journal of Physical Chemistry A*, 107(30), 5763-5777. <http://dx.doi.org/10.1021/jp027716w>
455. Lopes, J.F. et Gaspar, E.M.S.M. (2008). Simultaneous chromatographic separation of enantiomers, anomers and structural isomers of some biologically relevant monosaccharides.

- Journal of Chromatography A*, 1188(1), 34-42.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2007.12.016>
456. Franks, F. (1987). Physical chemistry of small carbohydrates - equilibrium solution properties. *Pure and Applied Chemistry*, 59(9), 1189-1202.
<http://dx.doi.org/10.1351/pac198759091189>
457. Brandi, G., Schiavano, G.F., Balestra, E., Tavazzi, B., Perno, C.F. et Magnani, M. (2001). The potency of acyclovir can be markedly different in different cell types. *Life Sciences*, 69(11), 1285-1290. [http://dx.doi.org/10.1016/S0024-3205\(01\)01213-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0024-3205(01)01213-9)
458. Boden, E.P. et Keck, G.E. (1985). Proton-transfer steps in Steglich esterification: A very practical new method for macrolactonization. *Journal of Organic Chemistry*, 50(13), 2394-2395.
459. Binkley, R.C., Ziepfel, J.C. et Himmeldirk, K.B. (2009). Anomeric selectivity in the synthesis of galloyl esters of d-glucose. *Carbohydrate Research*, 344(2), 237-239.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2008.10.024>
460. Bax, A., Farley, K.A. et Walker, G.S. (1996). Increased HMBC sensitivity for correlating poorly resolved proton multiplets to carbon-13 using selective or semi-selective pulses. *Journal of Magnetic Resonance - Series A*, 119(1), 134-138.
461. Houseknecht, J.B., Lowary, T.L. et Hadad, C.M. (2003). Improved Karplus equations for ³J_{C1,H4} in aldopentofuranosides: Application to the conformational preferences of the methyl aldopentofuranosides. *Journal of Physical Chemistry A*, 107(3), 372-378.
462. Anonyme. (2008). In memory of Viktor Alekseevich Raldugin. *Chemistry of Natural Compounds*, 44(5), 682.
463. Mantel, C., Chandor, A., Gasparutto, D., Douki, T., Atta, M., Fontecave, M., Bayle, P.A., Mouesca, J.M. et Bardet, M. (2008). Combined NMR and DFT studies for the absolute configuration elucidation of the spore photoproduct, a UV-induced DNA lesion. *Journal of the American Chemical Society*, 130(50), 16978-16984. <http://dx.doi.org/10.1021/ja805032r>
464. Weller, M.G. (2012). A unifying review of bioassay-guided fractionation, effect-directed analysis and related techniques. *Sensors (Switzerland)*, 12(7), 9181-9209.
<http://dx.doi.org/10.3390/s120709181>
465. Clinical Laboratory Standards Institute. (2004). *Antiviral susceptibility testing: herpes simplex virus by plaque reduction assay; approved standard M33-A*. Wayne, PA, USA
466. Tardif, K.D., Jorgensen, S., Langer, J., Prichard, M. et Schlaberg, R. (2014). Simultaneous titration and phenotypic antiviral drug susceptibility testing for herpes simplex virus 1 and 2. *Journal of Clinical Virology* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2014.08.015>
467. Pankaj, K. (2013, 19 novembre 2013). *Methods for Rapid Virus Identification and Quantification*. Récupéré le 3 octobre 2014 de www.labome.com/method/Methods-for-Rapid-Virus-Identification-and-Quantification.html
468. Sudjaroen, Y. (2014). Lack of in vitro anticancer and antimicrobial activities in *Suaeda maritima* (seablite) crude extracts. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 5(1), 45-49.
<http://dx.doi.org/10.4103/0976-9234.136796>
469. Diefenbach, R.J. et Fraefel, C. (2014). *Herpes Simplex Virus. Methods and Protocols*. New York : Springer Science.